Чит 3

П. С. САВЧЕНКО,
Ф. Г. ДЯТЛОВИЦКАЯ,
В. А. ЯРОШЕНКО,
Е. А. АЛЬБОВА

МЕТОДЫ ХИМИЧЕСКОГО и МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВОДЫ

Госмедиздат УССР

Н. С. СМИРНОВА
Б. А. БРОНШТЕЙН

МЕТ

ХИМИ

И МИКРОБИО

АНАЛИ

ГИ

РО
МЕДИЦИН

П. С. САВЧЕНКО, Ф. Г. ДЯТЛОВИЦКАЯ,
В. А. ЯРОШЕНКО, Е. А. АЛЬБОВА

МЕТОДЫ ХИМИЧЕСКОГО И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВОДЫ

№ 37
ЦЕНТРАЛЬНАЯ
ГИДРОХИМИЧЕСКАЯ
ЛАБОРАТОРИЯ

Госземводхоз РСФСР
Центральная
лаборатория
Инв. № 3
14/X-65 г.

ДМВ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО УССР
Киев—1961

613.1
М54

В книге представлены современные методы химического и микробиологического анализа природных и производственных сточных вод, проверенные на многолетней практике. Многие методы авторами существенно модифицированы.

Книга рассчитана на работников лабораторий санэпидстанций, водоочистных сооружений, ведомственных лабораторий, а также работников ряда отраслей промышленности, связанных с вопросами анализа воды.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ 3

Часть первая

Методы химического анализа питьевых вод (П. С. Савченко)

I. Общие указания к взятию проб воды и подготовке их для анализа 5
Отбор проб воды 5
Порядок проведения анализа и предварительная обработка проб . 7
Ведение рабочей тетради 8
Схема химического анализа воды 8
Методы химического анализа воды, принцип фотоколориметрии . 9
Вычисление результатов анализа 11

II. Определение физических и органолептических свойств воды 11
Температура 11
Запах 11
Вкус 12
Прозрачность и мутность 13
Осадок 13
Взвешенные вещества 13
Цветность 14

III. Определение химического состава воды 15
Растворенный кислород 15
Свободная углекислота 17
Агрессивная углекислота 18
Биохимическое потребление кислорода 19
Окисляемость воды 19
а) определение окисляемости перманганатным методом . . . 19
б) определение окисляемости в щелочной среде 20
Азот аммиачный 21
Азот нитритный 23
Азот нитратный 23
Определение pH 24
а) определение pH по Серенсену 24
б) определение pH по Джиллеспи 27
в) потенциометрическое определение pH 29
Щелочность 37

Карбонатная жесткость 37
Хлориды 37
а) определение по Мору 37
б) определение хлоридов меркурометрическим методом 38
Сульфаты 39
а) весовой метод 39
б) объемный метод 40
Железо 41
а) общее содержание железа 41
б) закисное железо 42
Сероводород 42
Фосфаты 42
Кремнекислота 43
Общая жесткость 44
Постоянная и временная жесткость 46
Кальций 47
Магний 49
Калий 49
Марганец 51
Сухой остаток 52
Проверка результатов анализа солевого состава воды 53
IV. Определение микроэлементов 54
Йод 54
Фтор 57
Медь 58
Цинк 59
Кобальт 61
Молибден 63
V. Контроль за качеством хлорирования воды 64
Определение активного хлора в хлорной извести 64
Определение остаточного хлора в воде 65
Литература 65

Часть вторая

Методы химического анализа производственных сточных вод
(Ф. Г. Дятловицкая)

I. Общие указания к взятию проб сточной воды и подготовке их для анализа 67
II. Схема анализа производственных сточных вод 68
III. Методы исследования 69
Температура 69
Цвет 70
Запах 70
Прозрачность 70
Взвешенные вещества 70
Определение концентрации ионов водорода 71
Щелочность 72
Кислотность 72
Биохимическое потребление кислорода 73
а) определение БПК методом разбавления 73
б) определение кислорода в модификации Ридель-Стюарта 75
в) определение в щелочно-гипохлоритной модификации . . . 75
г) определение БПК нитратным методом 76
Окисляемость 77
а) определение окисляемости бихроматным методом 77
б) определение окисляемости перманганатным методом . . . 78

Азот аммиачный 79
а) объемный метод 79
б) колориметрическое определение 80
Азот нитритный 83
Азот нитратный 83
Сероводород 83
Хлориды 84
Роданиды 85
Цианиды 87
а) определение цианидов в виде роданидов 87
б) пикратный метод определения цианидов 88
в) определение цианидов с барбитуровой кислотой 89
Мышьяк 90
Фенолы 93
а) определение фенолов йодометрическим методом 94
б) колориметрическое определение с паранитроанилином . . . 94
в) колориметрическое определение с 4-аминоантипирином . . 95
г) колориметрическое определение с пирамидоном 96
Пиридиновые основания 98
Летучие жирные кислоты 99
Метиловый спирт 101
Формальдегид 103
а) объемный метод 103
б) колориметрический метод 104
Смолы, масла и нефтепродукты 105
Ароматические амины 106
а) определение хлораминовым методом 107
б) определение бромид-броматным методом 108
Нитробензол 109
Трихлорбензол 111
Эфирсульфонат 112
Литература 115

Часть третья

Методы санитарно-микробиологических исследований В. А. Ярошенко и Е. А. Альбова

Санитарно-бактериологическое исследование питьевой воды В. А. Ярошенко и Е. А. Альбова 116
Подготовка к санитарно-бактериологическому анализу воды 116
Отбор, хранение и транспортирование проб воды в лабораторию . . 117
Стандартные методы санитарно-бактериологического исследования воды 120
1. План санитарно-бактериологического анализа питьевой воды . . 121
2. Определение общего количества микробов 123
3. Исследование воды на наличие кишечной палочки 129
а) Метод мембранных фильтров 129
б) Двухфазный бродильный метод 135
Учет результатов анализа и их регистрация 139
Оценка качества воды по бактериальным показателям 146
Нестандартные методы определения коли-титра воды (В. А. Ярошенко) 147
Проведение анализа трехэтапным бродильным методом 147
Метод прямого посева воды на среду Эндо 149

Исследование питьевой воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы (В. А. Ярошенко) 149
1. Классический метод исследования воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий 150
2. Ускоренный метод исследования воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий 152
3. Исследование воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий методом ориентировочной бактериологической пробы 154
4. Исследование воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий методом агглютинации микробных ассоциаций 155
5. Исследование воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий при помощи реакции с гаптеном . . . 158
6. Исследование воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы при помощи реакции нарастания титра фага 159
Применение РНФ для индикации брюшнотифозных бактерий 160
Применение РНФ для индикации дизентерийных бактерий . 162
7. Исследование воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы методом люминесцентной микроскопии (В. А. Ярошенко) 163
8. Исследование воды на присутствие холерного вибриона . . . 166
Санитарно-бактериологическое исследование минеральных газированных вод естественного происхождения (В. А. Ярошенко) 168
Санитарно-бактериологическое исследование хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод (В. А. Ярошенко) 172
Определение количественного и качественного состава микрофлоры воды прямым микроскопическим методом (Е. А. Альбова) 176
Использование прямого счета бактерий при санитарной оценке воды . . 180
Необходимое оборудование лаборатории. Питательные среды и способы их изготовления (В. А. Ярошенко) 181
Приборы, аппараты и инструментарий 181
Бактериологическая посуда 182
Реактивы и материалы 183
Стерилизация посуды и питательных сред 183
Стандартные питательные среды и индикаторы для бактериологических исследований воды 184
О повторном использовании мембранных фильтров, бывших в употреблении (Е. А. Альбова) 190
Литература (В. А. Ярошенко) 192

ПРЕДИСЛОВИЕ

Настоящая книга написана группой сотрудников Украинского научно-исследовательского института коммунальной гигиены в качестве руководства по анализу питьевых и сточных вод для лабораторий областных и городских санэпидстанций и санэпидотделов районных больниц. Книга может быть использована также лабораториями водопроводов и соответствующими лабораториями предприятий химической промышленности.

В ней излагаются современные методы анализа питьевых и сточных вод, описанные в отечественной и иностранной литературе. Ряд методов изложен в модификации авторов.

Руководство состоит из трех частей. Первая часть «Методы химического анализа питьевых вод» написана канд. хим. наук П. С. Савченко, вторая часть «Методы химического анализа производственных сточных вод» — канд. хим. наук Ф. Г. Дятловицкой и третья часть «Методы санитарно-микробиологических исследований воды» написана канд. мед. наук В. А. Ярошенко при участии канд. мед. наук Е. А. Альбовой.

Авторы будут благодарны за указание недостатков, ошибок и пожеланий в отношении настоящего руководства, которые просят направлять по адресу: г. Киев, улица Кирова № 7, Украинский институт коммунальной гигиены.

Авторы

МЕТ

При
вия:
1) пр
исключа
грязнен
2) вз
для дан
3) от
претерпе
Наиб
немедлен
хладном
В отк
помощи
набирают
пример н
каучуков
рованный
дергиваю
бутыль и
Для в
том, к ко
пробкой с
При о
провод) во
чаескважи
резервуара
сится к то
именно в
Бутыли
вымытые

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ

МЕТОДЫ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПИТЬЕВЫХ ВОД

1. ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К ВЗЯТИЮ ПРОБ ВОДЫ И ПОДГОТОВКЕ ИХ ДЛЯ АНАЛИЗА

Отбор проб воды

При взятии проб воды необходимо соблюдать определенные условия:

1) пробы должны быть отобраны таким образом, чтобы при этом исключались элементы случайности (случайные поверхностные загрязнения, взмученность у берегов от волны и т. д.);

2) взятая для анализа проба воды должна являться характерной для данной цели исследования;

3) от момента взятия пробы и до ведения анализа вода не должна претерпевать заметных изменений.

Наиболее неустойчивые компоненты поэтому нужно определять немедленно, в день взятия пробы, и воду сохранять в темном прохладном месте.

В открытых водоемах или шахтных колодцах воду отбирают при помощи батометра (рис. 1). При его отсутствии бутыль, в которую набирают пробу, монтируют в тяжелую, металлическую оправу, например на железном штативе Бунзена с кольцом. Бутыль закрывают каучуковой пробкой, к которой прикреплена бичевка. Импровизированный батометр спускают на шнуре на требуемую глубину, выдергивают при помощи бичевки пробку и таким образом наполняют бутыль исследуемой водой.

Для взятия проб с небольших глубин удобно пользоваться шестом, к которому укрепляется бутыль с грузом. Бутыль закрывается пробкой с бичевкой.

При отборе пробы воды из крана (артезианская скважина, водопровод) воду предварительно спускают в течение 3—5 минут. В случае скважины воду отбирают из контрольного крана в насосе, а не из резервуара, где вода может быть загрязнена. Это замечание не относится к тому случаю, когда ставится целью изучение качества воды именно в резервуаре.

Бутыли, в которых отбираются пробы воды, должны быть чисто вымытые и два-три раза сполоснутые исследуемой водой. Между

уровнем воды в бутылях и пробками должно оставаться небольшое воздушное пространство.

Для химического анализа, в зависимости от программы исследования, отбирают 1—2 *л*, а при определении микроэлементов — до 5—6 *л*.

Каждая проба воды, направляемая в лабораторию, должна быть соответствующим образом документирована. Наряду с этикеткой на

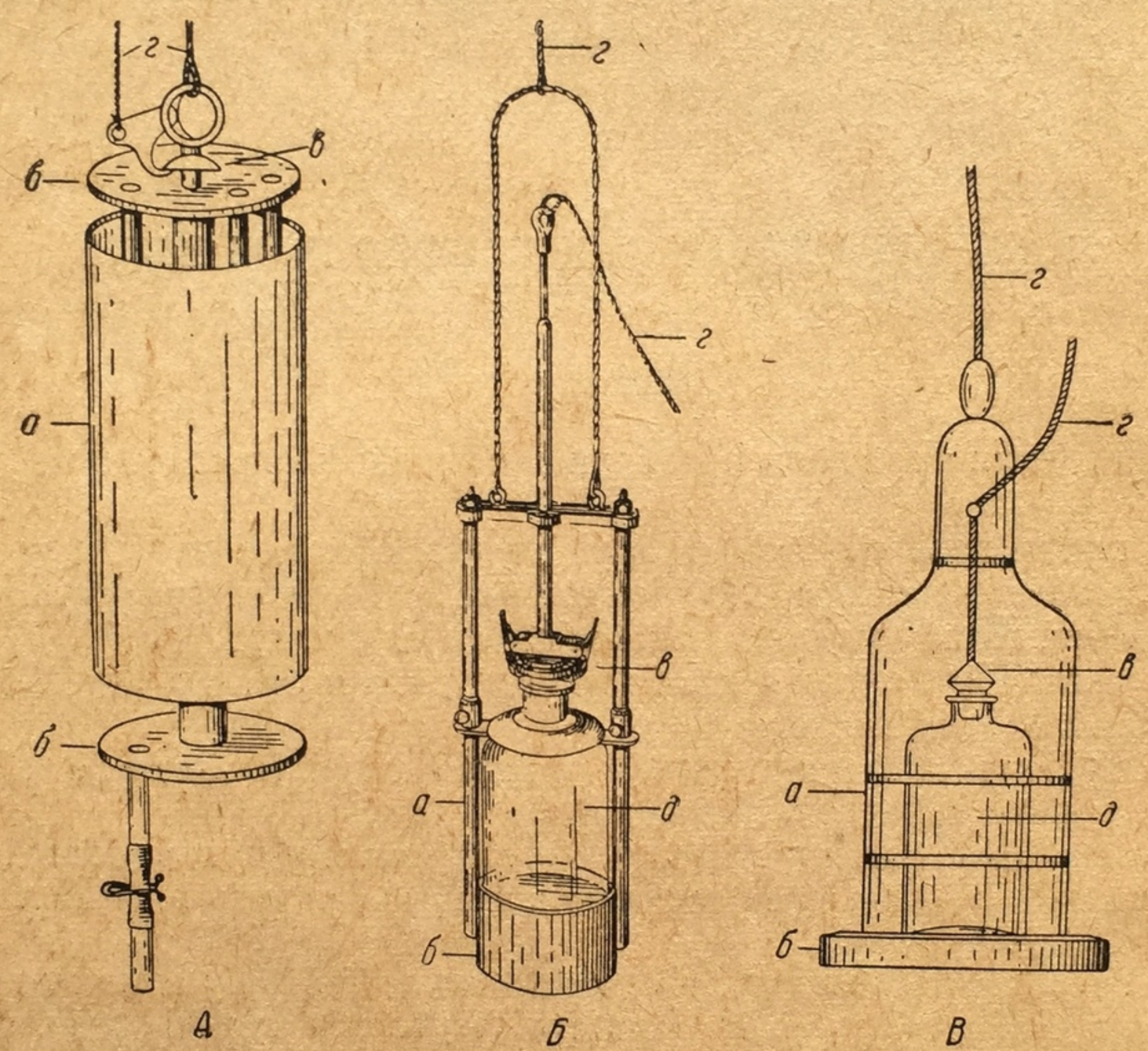


Рис. 1. Приборы для взятия проб воды (батометры):
А — батометр Рутнера: *а* — латунный цилиндр, *б* — крышка-клапан, *в* — затвор, *г* — трос; *Б*, *В*: *а* — металлический каркас, *б* — свинцовое дно, *в* — затвор, *г* — шнур, *д* — склянка (бутылка).

бутылке, где указывается наименование пробы, место и время выемки, обязательно составляется сопроводительное письмо (документ), в котором излагаются:

а) наименование водоисточника (колодец, артезианская скважина, река) и его местонахождение;

б) назначение водоисточника (для питьевых, хозяйственных нужд и т. д.);

в) время взятия пробы (год, месяц, число, час); глубина водоема в точке отбора и расстояние от берега — для открытых водоемов; глубина и характер откачки — для буровых скважин и колодцев;

г) метеорологические условия: температура воды и воздуха, состояние погоды за несколько дней до отбора и в момент отбора пробы;

д) цель исследования (санитарно-бактериологический анализ, определение микроэлементов, наличие патогенных микроорганизмов);

е) место службы, должность и подпись лица, производившего отбор пробы.

Порядок проведения анализа и предварительная обработка проб

На месте взятия проб производится определение температуры воды и газообразных соединений, а также вносятся в рабочую тетрадь все наблюдения, производимые на водоеме. Пробы воды для определения кислорода фиксируются соответствующими реактивами (стр. 15).

Химический анализ воды необходимо проводить в первый и второй день после взятия пробы. В первую очередь в пробе определяют: физические и органолептические свойства (запах, вкус, цветность, прозрачность, осадок), окисляемость, растворенный кислород, pH и все формы азота, железо и взвешенные вещества. Солевой состав воды (гидрокарбонаты, сульфаты, хлориды, кальций, магний и т. п.) может определяться спустя более продолжительное время, особенно при слабой минерализации воды.

В случае невозможности произвести определение окисляемости сразу же после доставки пробы в лабораторию отмеривают 100 *мл* воды, подкисляют 5 *мл* серной кислоты (1 : 3) и на следующий день заканчивают определение.

Если проба транспортируется далеко и пребывает в пути несколько дней, ее консервируют. Часть ее (0,5 *л*), служащая для определения аммиачного азота, железа и окисляемости, консервируется прибавлением 1,0 *мл* серной кислоты (1 : 3). Часть пробы (0,5 *л*) для определения нитритного и нитратного азота, а также взвешенных веществ консервируется прибавлением 1 *мл* хлороформа (на 0,5 *л* воды). Часть пробы (1,0—1,5 *л*) доставляется в неконсервированном виде.

При длительной транспортировке проб воду на анализ солевого состава и тяжелых металлов предварительно подкисляют, прибавляя 1 *мл* разбавленной (1 : 1) соляной кислоты на 0,5 *л* воды. Если вода помутнела в процессе ее транспортировки или хранения, ряд определений производится из предварительно взболтанной пробы, например определение фтора, щелочности, кальция, магния, железа и других тяжелых металлов.

Значительная цветность и мутность воды мешают колориметрическому определению азота аммиачного, нитритного и нитратного. В этом случае воду предварительно обесцвечивают и осветляют коагуляцией.

Для коагулирования применяется приблизительно однонормальный раствор сернокислого алюминия [111 *г* $A]_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ в 1 *л* воды]. Он прибавляется к воде в количестве миллилитров, равном щелочности воды, выраженной в мг-эквивалентах на литр, с

учетом объема; например, если щелочность воды составляет 3 *мг-экв/л*, для коагулирования 0,5 *л* ее прибавляют 1,5 *мл* нормального раствора коагулянта.

Если вода имеет очень высокую цветность, сернокислого алюминия прибавляют больше и воду соответственно подщелачивают.

Контроль процесса коагуляции производится приближенным определением pH. Оптимальное значение pH = 5[1].

Ведение рабочей тетради

В рабочую тетрадь записывают сведения о водоисточнике и пробе по следующим данным: местонахождение водоема, его назначение, пункт взятия пробы, время взятия (день и час), место и глубина взятия, погода при взятии пробы и за несколько дней до этого, температура воды и температура воздуха, начало и конец анализа.

Для подземных вод дополнительно указывают: глубину скважины или колодца, название водоносного горизонта, особенности оборудования и способ подъема воды.

Форма выражения составных частей воды должна соответствовать той форме, в какой они действительно в ней находятся, т. е. для газов молекулярная, а для солей ионная: $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, SO_4'' и т. д. Для биогенных элементов результаты анализа выражаются содержанием элемента, например, азота аммиачного, азота нитритного и т. д.

Результаты количественного определения обычно выражают в *мг/л*; солевой состав воды удобно выражать также в *мг-экв/л*.

Рабочую тетрадь нужно вести таким образом, чтобы в ней содержались абсолютно все первичные данные анализа. Удобно предварительно разграфить страницы тетради для отдельных определений с указанием № проб, объема воды, которая берется на каждое определение, объема рабочего раствора, его концентрации (К) и результата анализа.

Все выполненные в лаборатории анализы вносятся в лабораторный журнал.

Схема химического анализа воды

А. Краткий санитарный анализ

1. Температура.
2. Растворенный кислород (для открытых водоемов).
3. Сероводород.
4. Запах и вкус.
5. Цветность.
6. Прозрачность.

---

[1] Если коагулирование производится с целью последующего анализа воды на аммиачный азот, раствор сернокислого алюминия обязательно должен быть проверен на отсутствие в нем солей аммония.

7. Взвешенные вещества (для открытых водоемов), в случае наличия мути.
8. $БПК_5$ (для открытых водоемов).
9. Окисляемость по Кубелю.
10. Азот аммиачный.
11. Азот нитритный.
12. Азот нитратный.
13. Железо общее.
14. Щелочность (HCO_3^1).
15. pH.
16. Хлориды.
17. Общая жесткость.
18. Остаточный хлор (для водопроводной воды).

Б. Полный анализ воды

(дополнительные показатели к указанным выше)

19. Свободная углекислота (для открытых водоемов).
20. Карбонат-ион (для открытых водоемов).
21. Сульфат-ион.
22. Кальций.
23. Магний.
24. Калий.
25. Натрий (расчетным путем).
26. Постоянная жесткость.
27. Устранимая жесткость.
28. Иод.
29. Фтор.

Методы химического анализа воды, принцип фотоколориметрии

В химическом анализе воды наиболее широко применяются объемный и колориметрический методы. Принцип колориметрии заключается в определении концентрации веществ по интенсивности окраски соответствующих растворов. При этом исходят из закона Ламберта-Бэра, согласно которому при выравнивании интенсивности окраски двух тождественных растворов высоты столбов жидкости обратно пропорциональны концентрации растворов:

$$\frac{c}{c_1} = \frac{h_1}{h},$$

где c и h — концентрация и высота столба одного раствора, а c_1 и h_1 — соответственно другого раствора.

Колориметрическое определение осуществляется разными путями, например: а) путем сравнения испытуемого раствора с серией стандартных растворов, б) путем приготовления стандарт-

ной шкалы иммитирующего вещества, соответствующей определенной концентрации определяемого вещества; в) путем колориметрического титрования, при котором концентрация стандартного раствора подгоняется до концентрации испытуемого, и г) путем применения приборов (колориметров).

Наиболее совершенным является электрофотоколориметр, в котором интенсивность окрашивания раствора определяется по отклонению стрелки гальванометра, включенного в электрическую цепь, где источником тока служит фотоэлемент, испускающий поток электронов под влиянием освещения. Между источником света и фотоэлементом помещается кювета с испытуемым раствором. В зависимости от концентрации раствора происходит бóльшее или меньшее поглощение света в определенной части спектра, а следовательно, и бóльшая или меньшая освещенность фотоэлемента. Точность определения увеличивается тем, что часть спектра, не поглощаемая раствором, отключается при помощи соответствующего светофильтра. Цвет последнего обычно является дополнительным к испытуемому.

Приступая к определению, прежде всего подбирают надлежащий светофильтр. Потом в зависимости от интенсивности окрашивания подбирают длину кюветы или длину измеряемого столба окрашенного раствора. При этом руководствуются правилом, что для более интенсивно окрашенных жидкостей подбирается кювета с меньшей длиной слоя, а для слабо окрашенных — с большей.

Подобрав светофильтр и размер кюветы, приступают к нахождению калибровочной кривой для данного определения. Для этого готовят серию стандартных растворов и находят величину оптической плотности для каждой концентрации при одном и том же светофильтре и той же кювете. Кривая выводится таким образом, что по оси абсцисс откладывают значения концентрации в надлежащем масштабе, а по оси ординат — значения оптической плотности. Соединив полученные точки сплошной линией, получают калибровочную кривую, которой пользуются все время при работе на данном фотоколориметре. Определение данного компонента сводится к выполнению соответствующей реакции точно в тех же условиях, как она производилась при приготовлении стандартной шкалы, и к нахождению величины оптической плотности.

Рекомендуется пользоваться следущими кюветами и светофильтрами:

ингредиент	кювета	светофильтр
$NH_4^{\cdot}$	30 мм	синий
$NO_2^{\prime}$	50 мм	зеленый
$Fe^{\cdots}$	30 мм	синий

Устройство фотоколориметра и техника работы на нем описываются в проспектах, прилагаемых к прибору.

Вычисление результатов анализа

Для вычислений результатов анализа мы пользуемся следующими общими формулами.

1. В объемных определениях:

$$а)\ X = V \cdot K \cdot T \cdot Q\ мг/л,$$

где X — количество определяемого вещества в *мг/л*,
V — объем рабочего раствора, израсходованного на титрование,
K — поправка, указывающая степень отклонения титрованного раствора от рассчитанного,
T — титр строго 0,001 н. 0,01 н. и т. п. растворов в *мг/мл*,
$Q = \frac{1000}{v_1}$ — поправочный коэффициент для приведения результатов к 1 *л*, v_1 — объем взятой на определение воды

$$или\ б)\ X = V \cdot N \cdot T_N \cdot Q\ мг/л,$$

где N — нормальность рабочего раствора,
T_N — титр строго нормального раствора в *мг/л*,

$$или\ в)\ X = V \cdot N \cdot Q\ мг\text{-}экв/л.$$

2. В колориметрии:

$$X = V \cdot T \cdot \frac{h_1}{h} \cdot Q\ мг/л,$$

где V — количество *мл* стандартного раствора,
T — титр стандартного раствора в *мг/мл*,
h_1 и h — высоты столбов стандартного и исследуемого раствора соответственно.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОДЫ

Температура

Определение температуры воды производится немедленно после отбора пробы или непосредственно в водоеме. Для измерения употребляется ртутный термометр с делениями в 0,1°.

Для определения температуры на месте отбора проб воду в количестве не менее 1 *л* наливают в сосуд, температура которого предварительно доведена погружением в воду до температуры испытуемой воды. Погружают нижную часть термометра в воду и через 5 минут делают отсчет показаний термометра, не вынимая его из воды. Стенки сосуда, куда наливают воду, должны быть защищены от нагревания (лучей солнца или других источников тепла) и от охлаждения.

Одновременно измеряется температура воздуха.

Запах

Испытуемую воду наливают в колбу емкостью в 150—200 *мл* с широким горлом на 2/3 ее объема, накрывают часовым стеклом, встряхивают и, сняв стекло, энергично втягивают носом воздух из

колбы. Для запахов естественного происхождения дают определение по классификации, приведенной в табл. 1.

Таблица 1

Классификация запахов воды

А — ароматический,	П — плесневый,
Б — болотный,	Р — рыбный,
Г — гнилостный,	С — сероводородный,
Д — древесный,	Т — травянистый,
З — землистый,	Н — неопределенный.

Запахи искусственного происхождения называют по соответствующим веществам: фенольный, хлорфенольный, камфарный, бензинный, хлорный и др.

Аналогично определяют запах при нагревании воды до 60° в колбе, накрытой часовым стеклом.

Оценку интенсивности запаха производят в баллах, пользуясь табл. 2.

Таблица 2

Пятибальная система обозначения интенсивности запаха

Баллы	Термин	Значение
0	нет	Запах вовсе не ощущается
1	очень слабый	запах обычно не ощущаемый, но обнаруживаемый привычным наблюдателем
2	слабый	запах, обнаруживаемый потребителем, если на запах обратить внимание
3	заметный	запах слегка замечаемый и могущий вызвать неодобрительные отзывы потребителей
4	отчетливый	запах, обращающий на себя внимание и могущий заставить воздержаться от питья
5	очень сильный	запах настолько сильный, что вода непригодна для питья

Проведение работы по определению запаха требует соблюдения следующих условий:

а) воздух помещения, где производится определение, не должен иметь запаха;

б) должно быть обеспечено отсутствие какого-либо запаха от рук и платья наблюдателя;

в) одному и тому же лицу нельзя производить определение запаха длительное время, так как наступает утомляемость обонятельного анализатора и чувствительность его падает.

Вкус

Различают четыре вида вкуса: соленый, горький, сладкий и кислый. Остальные виды вкусовых ощущений называются привкусами.

Вкус и привкус определяются в сырой воде, за исключением воды открытых водоемов и источников, сомнительных в санитар-

ном отношении. В последних вкус определяют в кипяченой воде после ее охлаждения до комнатной температуры. Определяют характер привкуса воды и его интенсивность в баллах, пользуясь также табл. 2.

Прозрачность и мутность

Степень мутности воды зависит от наличия в ней взвешенных веществ. Мутность воды характеризуют терминами: прозрачная, опалесцирует, слабая муть, мутная.

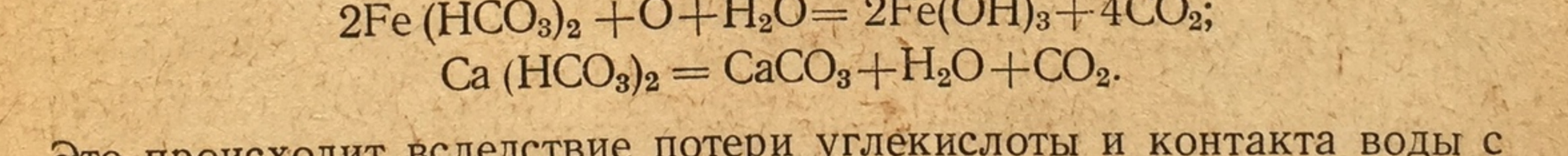
Прозрачность воды определяется при помощи стеклянного цилиндра с отшлифованным дном (цилиндр Снеллена). Цилиндр градуирован по высоте на сантиметры, начиная с дна. Высота градуированной части составляет 30 *см*.

Испытуемую воду перед определением взбалтывают, наливают в цилиндр и ставят его неподвижно над шрифтом с высотой букв 2 *мм*, который должен находиться на расстоянии 4 *см* от дна. Отливая воду из цилиндра, находят предельную высоту столба воды, при которой чтение шрифта еще возможно. Определение производится в хорошо освещенном помещении, не на прямом свету, на расстоянии 1 *м* от окна.

Прозрачность по шрифту Снеллена выражается в *см* высоты столба с точностью до 0,5 *см*. По окончании определения цилиндр опорожняется и ополаскивается чистой водой.

Осадок

Осадок в воде образуется вследствие оседания под влиянием тяжести взвешенных твердых частиц. Последние могут быть в воде в готовом виде, например частицы почвы, или же могут образоваться в результате химического разложения веществ, содержащихся в воде. При стоянии воды чаще всего наблюдается образование осадка от окисления железа и разложения гидрокарбонатов:



$$2Fe(HCO_3)_2 + O + H_2O = 2Fe(OH)_3 + 4CO_2;$$
$$Ca(HCO_3)_2 = CaCO_3 + H_2O + CO_2.$$

Это происходит вследствие потери углекислоты и контакта воды с кислородом воздуха.

Вода характеризуется по этому показателю следующим образом: осадка нет, незначительный осадок, большой осадок. Указывается характер осадка: хлопьевидный, илистый, песчаный, а также его цвет. В случае очень объемистого осадка отмечают высоту слоя или его объем в процентах к объему пробы.

Взвешенные вещества

Определение взвешенных веществ производится весовым путем при помощи промытых дистиллированной водой и доведенных до постоянного веса при температуре 105° беззольных бумажных фильт-

ров. В случае очень малого содержания взвешенных веществ (прозрачность выше 16 *см*, по Снеллену) их не определяют.

При большом содержании взвешенных веществ (более 50 *мг/л*) для определения берут менее 1 *л* воды, при малом их содержании воды берут 1 *л*.

Содержание взвешенных веществ (X) в испытуемой воде в *мг/л* определяется по формуле:

$$X = \frac{1000\,(a_1 - a)}{V},$$

где a_1 — вес фильтра со взвешенным веществом,
a — вес фильтра,
V — количество взятой для определения воды в *мл*.

Цветность

Количественно цветность определяется путем сравнения со шкалой, имитирующей окраску воды. В качестве основного стандартного раствора применяют кобальто-хроматную шкалу.

Приготовление кобальто-хроматной шкалы. Необходимые реактивы: 1) калий двухромовокислый, 2) кобальт сернокислый и 3) кислота серная.

Приготовляют два раствора. № 1 (основной раствор): растворяют в дистиллированной воде 0,0875 *г* двухромовокислого калия и 2,000 *г* сернокислого кобальта, смешивают оба раствора и доводят дистиллированной водой до 1 *л*. Этот раствор отвечает цветности 500°; № 2: один *мл* химически чистой серной кислоты (уд. в. 1,84) разводят дистиллированной водой до литра.

Смешиванием растворов № 1 и 2 в соотношениях, приведенных в табл. 3, получают шкалу цветности.

Шкалу готовят из указанного основного раствора в цилиндрах Несслера емкостью 100 *мл*, беря различные количества этого раствора, и доводят до 100 *мл* дистиллированной подкисленной водой (раствор № 2), как указано в табл. 3.

Таблица 3

Приготовление шкалы цветности воды

Раствор № 1 в *мл*	0	1	2	3	4	5	6	8	10	12	14	16
Раствор № 2 в *мл*	100	99	98	97	96	95	94	92	90	88	86	84
Градусы цветности	0	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70	80

Шкала хранится в темном месте. Цилиндры должны быть закрыты пробками. Через 2—3 месяца требуется возобновление шкалы

Шкалу можно также хранить в склянках с притертой пробкой и переливать в колориметрические цилиндры лишь при определении цветности.

Определение цветности. В цилиндр Несслера наливают 100 *мл* испытуемой воды и, рассматривая сверху, сравнивают на белом фоне окраску испытуемой воды со стандартами. Результаты выражают в градусах шкалы.

Более точное определение цветности можно произвести в цилиндрах Генера. Мутная вода, с прозрачностью ниже 20 *см* по шрифту Снеллена, перед определением должна быть профильтрована.

Если исследуемая вода имеет цветность выше 80°, то определение производится после ее разбавления дистиллированной водой. Величина цветности в этом случае получается умножением результата определения на кратность разбавления.

III. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДЫ

Растворенный кислород

Отбор проб воды на кислород. Отбор проб необходимо производить таким образом, чтобы полностью исключить контакт воды с кислородом воздуха. Этому требованию наиболее полно отвечает отбор проб при помощи батометра Рутнера. В случае его отсутствия поверхностные пробы (с глубины 20—30 *см*) можно отобрать непосредственно в кислородные склянки, пользуясь резиновой пробкой с двумя стеклянными трубками, из которых одна длинным концом выходит наружу, а другая — внутрь, до дна склянки (рис. 2). Это устройство хотя и не позволяет полностью избежать контакта воды с воздухом, однако устраняет перемешивание воды с ним. Склянку, закрытую пробкой с указанными трубками, опускают на требуемую глубину (20—30 *см* от поверхности) рукой. Склянки предварительно калибруют.

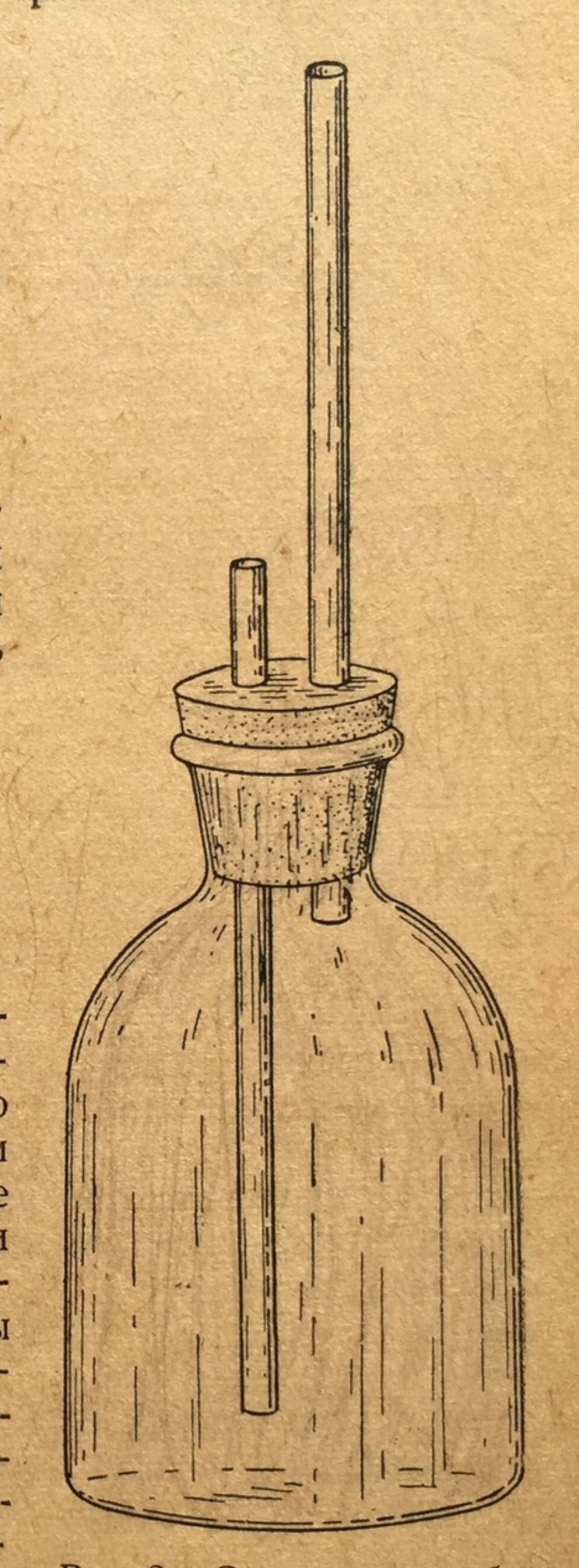


Рис. 2. Склянка для отбора проб воды на кислород.

Принцип метода определения кислорода (по Винклеру). Метод базируется на том, что гидроокись двухвалентного марганца (бе-

лый осадок) поглощает свободный кислород, образуя двуокись марганца (бурый осадок):

$$2MnCl_2 + O_2 + 4NaOH = 2MnO_2 + 4NaCl + 2H_2O.$$

Количество MnO_2, эквивалентное количеству поглощенного кислорода, определяется йодометрически:

$$MnO_2 + 4KJ + 4HCl = MnCl_2 + 2J_2 + 2H_2O;$$

$$J_2 + 2Na_2S_2O_3 = Na_2S_4O_6 + NaJ.$$

Ход определения. Наполнив кислородную склянку испытуемой водой, быстро приливают пипеткой 1 *мл* насыщенного раствора соли марганца, причем кончик пипетки должен быть опущен в воду. Потом другой пипеткой таким же образом прибавляют 1 *мл* щелочного раствора йодистого калия. Склянку быстро закрывают пробкой, раствор перемешивают, переворачивая склянку несколько раз вверх дном, и дают отстояться. В таком виде проба доставляется в лабораторию. После полного отстаивания осадка к ней прибавляют при помощи пипетки 5 *мл* серной кислоты (1:3), закрывают пробкой и перемешивают. Через 5 минут содержимое склянки переносят в колбу емкостью 500—700 *мл* и титруют 0,02 н. раствором гипосульфита, сначала без крахмала до слабо желтого окрашивания, а потом прибавляют 2-3 *мл* раствора крахмала и титруют до обесцвечивания. Этим раствором споласкивают кислородную склянку и дотитровывают посиневший раствор окончательно.

Вычисление результатов (X) производится по формуле:

$$X = V \cdot K \cdot 0{,}16 \frac{1000}{(V_1 - 2)} \text{ мг/л}^1,$$

где V — объем гипосульфита,

$(V_1 - 2)$ — объем кислородной склянки, уменьшенный на объем реактивов.

Процент насыщения воды кислородом вычисляют, пользуясь таблицей растворимости кислорода в воде при данной температуре (табл. 4).

Посуда. Для определения растворенного кислорода требуются склянки емкостью 125—200 мл с хорошо притертыми пробками. Перед применением их калибруют, для чего тщательно моют, сушат, охлаждают и взвешивают на технических весах: сначала пустыми, а потом наполнив дистиллированной водой. Зная по справочным таблицам[2] вес одного *мл* воды при данной температуре, находят объем склянки. В крайнем случае объем склянки определяют мерным цилиндром, что менее точно.

Найденную емкость надписывают лаком или масляной краской на склянке, кроме того, склянку и пробку к ней нумеруют. В рабочую тетрадь записывают номер склянки и ее объем.

---

[1] В этой и в других формулах для вычисления результатов анализа «К» представляет собой поправку к применяемому титрованному раствору.

[2] Ю. Ю. Лурье. Расчетные и справочные таблицы для химиков, Госхимиздат, 1947.

Таблица 4

Растворимость кислорода в дистиллированной воде при 760 *мм* давления

(в *мг/л*)

T°	0°	0,1°	0,2°	0,3°	0,4°	0,5°	0,6°	0,7°	0,8°	0,9°
0°	14,70	14,66	14,62	14,58	14,54	14,50	14,46	14,42	14,38	14,34
1°	14,30	14,26	14,23	14,19	14,15	14,11	14,07	14,03	14,00	13,96
2°	13,92	13.88	13,85	13,81	13,78	13,74	13,70	13,67	13,63	13,60
3°	13,56	13,53	13,49	13,46	13,42	13,39	13,36	13,32	13,29	13,25
4°	13,22	13,19	13,15	13,12	13,09	13,05	13,02	12,99	12,96	12,92
5°	12,89	12,86	12,83	12,80	12,77	12,73	12,70	12,67	12,64	12,61
6°	12,58	12,56	12,52	12,49	12,46	12,43	12,41	12,38	12,35	12,32
7°	12,29	12,26	12,23	12,20	12,17	12,14	12,12	12,09	12,06	12,03
8°	12,00	11,97	11,95	11,92	11,89	11,86	11,84	11,81	11,78	11,76
9°	11,73	11,70	11,68	11,65	11,63	11,60	11,57	11,55	11,52	11,50
10°	11,47	11,45	11,42	11,40	11,37	11,35	11,33	11,30	11,28	11,25
11°	11,23	11,21	11,18	11,16	11,13	11,11	11,09	11,06	11,04	11,01
12°	10,99	10,97	10,94	10,92	10,90	10,87	10,85	10,83	10,81	10,78
13°	10,76	10,74	10,72	10,69	10,67	10,65	10,63	10,61	10,58	10,56
14°	10,54	10,52	10,50	10,48	10,46	10,43	10,41	10,39	10,37	10,35
15°	10,33	10,31	10,29	10,27	10,25	10,23	10,21	10,19	10,17	10,15
16°	10,13	10,10	10,09	10,07	10,05	10,03	10,01	9,99	9,97	9,95
17°	9,93	9,91	9,89	9,87	9,85	9,83	9,82	9,80	9,78	9,76
18°	9,74	9,72	9,70	9,69	9,67	9,65	9,63	9,61	9,60	9,58
19°	9,56	9,54	9,53	9,51	9,49	9,47	9,46	9,44	9,42	9,41
20°	9,39	9,37	9,36	9,34	9,33	9,31	9,29	9,28	9,26	9,25
21°	9,23	9,21	9,19	9,18	9,16	9,14	9,13	9,11	9,09	9,08
22°	9,06	9,04	9,03	9,02	9,00	8,98	8,97	8,95	8,94	8,92
23°	8,91	8,89	8,88	8,87	8,85	8,83	8,82	8,80	8,79	8,77
24°	8,76	8,75	8,73	8,72	8,70	8,69	8,68	8,66	8,65	8,63
25°	8,62	8,61	8,59	9,58	8,56	8,55	8,54	8,52	8,51	8,49
26°	8,48	8,47	8,45	8,44	8,43	8,41	8,40	8,39	8,38	8,36
27°	8,35	8,34	8,32	8,31	8,30	8,28	8,27	8,26	8,25	8,23
28°	8,22	8,21	8,20	8,18	8,17	8,16	8,15	8,14	8,12	8,11
29°	8,10	8,09	8,08	8,06	8,05	8,04	8,03	8,02	8,00	7,99
30°	7,98	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Реактивы: 1. 0,02 н. раствор гипосульфита.

2. Насыщенный раствор соли марганца (425 *г/л* хлористого марганца $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ или 480 *г/л* сернокислого марганца $Mn\,SO_4 \cdot 5H_2O$).

3. Щелочной раствор йодистого калия. 700 *г* KOH или 500 *г* NaOH растворяют в дистиллированной воде таким образом, чтобы объем раствора не превышал 800 *мл*. Отдельно в небольшом количестве воды растворяют 150 *г* Kj. Оба раствора сливают вместе и доводят дистиллированной водой до 1 *л*.

5. Серная кислота (1 : 3).

Свободная углекислота

Накопление свободной углекислоты в воде открытых водоемов указывает на неблагоприятные условия течения окислительных процессов, на слабую аэрацию и недостаточный фотосинтез. Такая вода обладает высокой агрессивностью — сильным разрушающим действием на бетонные сооружения. С накоплением углекислоты в воде часто бывает связано также накопление сероводорода.

Определение свободной углекислоты производится путем титрования ее едким натром или содой в присутствии фенолфталеина, согласно уравнению:

$$Na_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2NaHCO_3.$$

Точка титрования отвечает pH = 8,3.

Определение. В коническую колбу с предварительно нанесенной меткой на 200 *мл* отмеривают осторожно сифоном 200 *мл* испытуемой воды, прибавляют 2 *мл* раствора фенолфталеина и титруют раствором соды до появления розовой окраски, сохраняющейся в течение 5 минут. Если при прибавлении фенолфталеина вода сразу приобретает розовую окраску, отмечают, что углекислота отсутствует. Конец титрования легче устанавливается при сравнении окраски титруемой пробы со стандартным окрашенным раствором смеси соли кобальта и меди.

Определение обязательно повторяют, приливая сразу почти весь объем соды, пошедшей при первом титровании, и затем дотитровывают до стандартной окраски. Расчет ведут по второму титрованию. Содержание свободной углекислоты вычисляется по формуле:

$$X = V \cdot K \cdot 0{,}88 \cdot 5 = V \cdot K \cdot 4{,}4 \text{ мг/л},$$

где V — объем 0,02 н. раствора соды, ушедшей на титрование, 0,88 — титр 0,02 н. раствора соды.

В случае высокой жесткости воды для устранения выпадения осадка к испытуемой воде прибавляют 1 *мл* раствора сегнетовой соли.

Реактивы: 1. 0,02 н. раствор соды: 2,12 *г* Na_2CO_3 разводят в 1000 *мл* дистиллированной воды, не содержащей CO_2.

2. 0,1% раствор фенолфталеина: 0,1 *г* фенолфталеина растворяют в 100 *мл* этилового спирта.

3. Стандартный окрашенный раствор (основной): 2,0 *г* $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ и 2,0 *г* $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ растворяют в колбе на 200 *мл*, прибавляют 2 *мл* концентрированной соляной кислоты и доводят до метки. Рабочий стандартный раствор получают разведением основного раствора в 10 раз.

4. Раствор сегнетовой соли: 50 *г* $Na\,KC_4H_4O_6$ растворяют в 100 *мл* дистиллированной воды.

Агрессивная углекислота

Свободная углекислота в зависимости от солевого состава воды оказывает большее или меньшее растворяющее действие на карбонат кальция и способствует разрушению бетонных сооружений. Это так называемая агрессивная углекислота.

Агрессивную углекислоту определяют как разность в щелочности воды, насыщенной углекислым кальцием (мрамором), и необработанной воды.

Определение. В склянку с притертой пробкой емкостью около 300 *мл* всыпают около 3 *г* порошка мрамора, затем при помощи сифона ее заполняют доверху испытуемой водой, закрывают пробкой и встряхивают в течение 6 часов на шюттель-аппарате. При отсутствии указанного аппарата пробу ставят в темном месте на 5 суток при

периодическом помешивании. Потом раствор отстаивают, сливают сифоном с осадка, фильтруют и отбирают 100 *мл* для определения щелочности путем титрования 0,1 н. HCl со смешанным индикатором. От найденной таким образом величины щелочности, выраженной в *мг-экв/л*, отнимают величину щелочности необработанной воды. Полученную разность умножают на 22 и находят содержание агрессивной углекислоты в *мг/л*.

Щелочность воды (x) вычисляется по формуле:

$$X = V \cdot K \text{ мг-экв/л},$$

где V — объем кислоты (0,1 н), пошедшей на титрование.

Реактивы: 1. 0,1 н. соляная кислота,

2. Смешанный индикатор, который готовится следующим образом: 32 *мг* метилового красного растворяют в 80 *мл* этилового спирта и прибавляют к нему 4,8 *мл* 0,1% спиртового раствора метиленовой сини. Смесь нейтрализуют 1,18 *мл* 0,1 н. NaOH и доводят спиртом до 100 *мл*.

3. Мрамор чистый, тонко измельченный до порошка, промытый прокипяченной дистиллированной водой и высушенный при 105°.

Биохимическое потребление кислорода

Биохимическое потребление кислорода (БПК) выражает количество кислорода в *мг*, необходимое для биохимического окисления органических веществ, содержащихся в 1 *л* воды. Определяется эта величина как разность в содержании кислорода в момент взятия пробы и спустя определенное время, например пять суток ($БПК_5$).

При относительно сильном загрязнении воды открытых водоемов, для которых и служит это определение, может оказаться, что спустя 5 суток в ней кислорода не окажется вовсе. Определение поэтому начинают с того, что исследуемую воду предварительно взбалтывают в продолжение одной минуты в присутствии воздуха для насыщения ее кислородом. Потом определяют описанным выше способом растворенный кислород в одной части пробы сразу же после взбалтывания, а в другой — спустя 5 суток стояния в темном месте при температуре 18—20° в термостате.

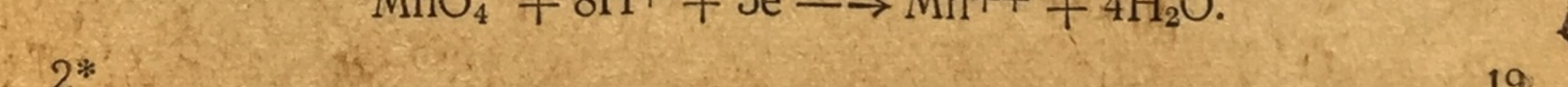
Для определения БПК применяются склянки с хорошо притертыми пробками емкостью 200—300 *мл*. На горлышко склянки с пробкой одевают резиновый колпачок для герметичности.

Окисляемость воды

Окисляемость характеризует общее содержание в воде органических веществ и выражается в количестве кислорода, которое затрачивается на их окисление. Существует два метода определения окисляемости — перманганатный и бихроматный.

а) *Определение окисляемости перманганатным методом*

Окисление органических веществ перманганатом калия в кислой среде протекает по уравнению:



$$MnO_4^- + 8H^+ + 5e \longrightarrow Mn^{++} + 4H_2O.$$

После кипячения раствора в течение 10 минут к нему прибавляют щавелевую кислоту, восстанавливающую избыток перманганата калия:

$$2MnO_4^- + 5C_2O_4^{-2} + 16H^+ \longrightarrow 2Mn^{++} + 8H_2O + 10CO_2.$$

Избыток прибавленной щавелевой кислоты затем оттитровывают исходным раствором перманганата калия. Окисляемость выражают в *мг* кислорода на 1 *л* воды.

Ход анализа. К 100 *мл* исследуемой воды прибавляют 5 *мл* разбавленной (1 : 3) серной кислоты. Для равномерного кипения желательно также прибавить несколько кусочков пемзы или стеклянных капилляров. Потом прибавляют 10 миллилитров 0,01 н. раствора марганцевокислого калия и нагревают сначала на сильном огне до кипения и кипятят ровно 10 минут на слабом огне. Затем к раствору прибавляют 10 *мл* 0,01 н. раствора щавелевой кислоты и титруют 0,01 н. раствором марганцевокислого калия до бледнорозового окрашивания. После этого прибавляют 10 *мл* 0,01 н. раствора щавелевой кислоты и титруют 0,01 н. раствором перманганата для определения поправки (К) последнего.

Окисляемость (X) вычисляется по формуле:

$$X = [(V_1 + V_2) \cdot K - 10] \cdot 0{,}08 \cdot 10 \text{ мг } O_2/л,$$

где: $V_1 + V_2$— суммарное количество *мл* израсходованного перманганата.

В мутных водах желательно произвести определение окисляемости фильтрованной и нефильтрованной воды. Фильтр предварительно промывают испытуемой водой (до полулитра). В случае высокой окисляемости пробу разводят дистиллированной водой, отдельно определяют окисляемость дистиллированной воды и эту величину учитывают при расчете (см. ч. II, стр. 79).

Реактивы: 1. 0,01 н. раствор щавелевой кислоты; исходным раствором, по которому устанавливается поправка рабочих растворов, является 0,1 н. раствор щавелевой кислоты. Для приготовления 0,1 н. раствора удобно пользоваться фиксаналами. Путем разбавления такого раствора (в 10 раз) получают строго сантинормальный раствор (с поправкой, равной 1), по которому находят поправку для сантинормального раствора марганцевокислого калия. Для устойчивости титрованных (0,1 н. и 0,01 н.) растворов щавелевой кислоты перед тем, как довести объем до метки, прибавляют 30 *мл* разведенной (1 : 3) серной кислоты на 1 *л*.

2. 0,01 н. раствор $KMnO_4$; готовится путем разведения 0,1 н. раствора.

3. Серная кислота (1 : 3).

б) Определение окисляемости в щелочной среде

При высоком содержании хлоридов (свыше 300 *мг/л*) определение окисляемости по Кубелю в кислой среде дает завышенные результаты вследствие окисления хлоридов до свободного хлора. При этом ошибка тем больше, чем выше содержание хлоридов. В этом случае необходимо производить предварительное осаждение хло-

ридов азотнокислым серебром или производить окисление перманганатом калия в щелочной среде, как описывается ниже.

Определение: к 100 *мл* испытуемой воды прибавляют 0,5 *мл* щелочи (содержащей 20 *г* NaOH на 100 *мл* дистиллированной воды, перегнанной с $KMnO_4$). После этого прибавляют 10 мл 0,01 н. $KMnO_4$, несколько капилляров и кипятят 10 минут. Раствор охлаждают под краном холодной водой, прибавляют 5 *мл* разбавленной серной кислоты (1 : 3) и 10 *мл* 0,01 н. щавелевой кислоты. После обесцвечивания титруют 0,01 н. раствором перманганата калия. Расчет производится по той же формуле, что и в методе Кубеля, проводимом в кислой среде.

При очень высоком содержании хлоридов следует применять йодометрический конец титрования, чтобы полностью устранить возможность окисления хлоридов, могущее иметь место при подкислении раствора. Для этого в колбу после кипячения и охлаждения вносят 0,5 *г* йодистого калия, 5 *мл* разбавленной (1 : 3) серной кислоты и через 5 минут выделившийся йод оттитровывают 0,01 н. раствором гипосульфита в присутствии крахмала. Обозначают пошедший объем гипосульфита через *в*.

Вычисление результатов производится по формуле:

$X = (a - в) \cdot K \cdot 0{,}08 \cdot 10$ *мг* кислорода в 1 *л*, где:

а — количество *мл* гипосульфита, соответствующее 10 *мл* $KMnO_4$. Для определения его в колбу вносят 0,5 *г* йодистого калия, который растворяют в 2—3 *мл* дистиллированной воды, приливают 2—3 *мл* разбавленной серной кислоты, 10 *мл* 0,01 н. раствора перманганата калия и 100 *мл* дистиллированной воды. Через 5 минут выделившийся йод титруют 0,01 н. раствором гипосульфита (*а* мл).

Примечание. Для естественных вод щелочная окисляемость дает результаты либо заниженные, либо близкие к кислой окисляемости. Сопоставление полученных данных с обычным методом (Кубеля) вполне возможно, так как отклонение в обе стороны для разных вод не превышает в среднем 25%.

Реактивы: 1. 0,01 н. раствор $KMnO_4$.
2. 0,01 н. раствор $H_2C_2O_4$.
3. 20% раствор NaOH готовится на дистиллированной воде, отогнанной с $KMnO_4$.
4. Серная кислота (1 : 3).
5. Йодистый калий.
6. 0,01 н. раствор гипосульфита.
7. Раствор крахмала.

Определение окисляемости бихроматным способом (см. ч. II стр. 77).

Азот аммиачный

Аммиачный азот определяется по Несслеру. Принцип метода определения заключается в том, что ртутно-йодистая комплексная соль $K_2[HgJ_4]$ в щелочном растворе (реактив Несслера) с аммиаком или солями аммония образует желтое окрашивание, поддающееся

колориметрированию. При этом образуется меркур-аммоний йодид (бурый осадок), растворяющийся в реактиве Несслера:

$$2K_2[HgJ_4] + NH_3 + 3KOH = Hg_2O \cdot NH_2J + 2H_2O + 7KJ.$$

Определение. К 100 *мл* испытуемой воды прибавляют 2 *мл* раствора сегнетовой соли, 2 *мл* реактива Несслера и через 10 минут колориметрируют, пользуясь серией стандартных растворов. В качестве стандарта применяется раствор хлористого аммония, содержащего 0,01 *мг* азота в 1 *мл*. Стандартного раствора берут 1, 1,5, 2,0 мл и т. д. Стандартные растворы приготовляются одновременно с испытуемым. Колориметрирование можно производить как в цилиндрах Несслера, так и в цилиндрах Генера.

Подбирают номер стандартного раствора, который по окраске соответствует испытуемому, и окончательно выравнивают интенсивность окраски испытуемого и стандартного растворов путем сливания более концентрированного раствора. Получив одинаковую интенсивность окраски растворов при просматривании их в проходящем свете (сверху вниз), записывают концентрацию стандартного раствора и высоты столбов обоих растворов.

Вычисление результатов производится по формуле:

$$\frac{c}{c_1} = \frac{h_1}{h},$$

где c и h — концентрация и высота столба испытуемого раствора, c_1 и h_1 — концентрация и высота столба стандартного раствора. Например, беря 0,2 *мл* стандартного раствора, содержащего 0,01 *мг* азота в 1 *мл*, концентрация его (c) составит:

$$c = 0{,}2 \cdot 0{,}01 = 0{,}002 \text{ мг в } 100 \text{ мл}.$$

Учитывая соотношения высот столбов жидкости и приводя результаты к 1 л, получим:

$$c = 0{,}002 \cdot \frac{h_1}{h} \cdot 10 = 0{,}02 \cdot \frac{h_1}{h} \text{ мг/л}.$$

При наличии в лаборатории электрофотоколориметра определения производятся на этом приборе (см. ч. II, стр. 80.).

Примечание. В случае окрашенных вод предварительно производят их обесцвечивание путем коагуляции сернокислым алюминием в присутствии воды или поташа. Присутствие больших количеств кальция и магния (жесткие воды), а также железа вредит определению, так как они дают муть с реактивом Несслера. В этом случае к испытуемой воде прибавляют большее количество раствора сегнетовой соли, о чем указано выше Устранения высокой жесткости можно добиться также следующим образом: отбирают 200—250 *мл* испытуемой воды и прибавляют к ней 1 *мл* концентрированного (50%) раствора NaOH и 1 *мл* насыщенного раствора соды (Na_2CO_3), взбалтывают, дают осадку осесть и для определения берут осветленную часть.

Реактивы: 1. Сегнетова соль, 50% раствор: 500 *г* растертой в ступке сегнетовой соли растворяют при нагревании в воде и доводят объем раствора до 1 *л*, затем прибавляют 50 *мл* реактива Несслера и дают отстояться в течение 3 суток.

2. **Реактив Несслера.** 30 *г* сулемы ($HgCl_2$) растворяют в 150 *мл* нагретой до кипения безаммиачной воды. Горячий раствор сулемы приливают к раствору йодистого калия (50 *г* KJ растворяют в 50 *мл* безаммиачной воды) до появления нерастворимого красного осадка. Раствор отфильтровывают через стеклянный

фильтр, прибавляют к нему раствор щелочи (150 *г* KOH, растворенного в 300 *мл* безаммиачной воды) и доводят безаммиачной водой до 1 литра. Реактив оставляют в темном месте до полного осветления.

3. **Безаммиачная вода.** Дистиллированная вода подкисляется серной кислотой и отгоняется. В отгоне аммиак отсутствует. Для равномерного кипения рекомендуется прибавить к воде щепотку талька.

4. Стандартный раствор: 3,82 *г* NH_4Cl разводят до 1 *л*, потом 10 *мл* его снова разводят до 1 *л*. Один *мл* такого раствора содержит 0,01 *мг* азота.

Азот нитритный

Нитриты в воде определяются при помощи реактива Грисса, представляющего смесь альфанафтиламина и сульфаниловой кислоты в уксуснокислом растворе. В продаже имеется реактив Грисса в сухом виде. В присутствии даже ничтожного количества нитритов происходит порозовение раствора вследствие образования диазокраски.

Определение. К 100 *мл* испытуемой воды прибавляют 5 *мл* реактива Грисса и спустя 20 минут колориметрируют в цилиндрах Генера или при помощи электрофотоколориметра. В качестве стандарта применяется раствор азотистокислого натрия, содержащий 0,001 *мг* азота в 1 *мл*. Для ускорения реакции можно применить нагревание смеси до 50—60° на водяной бане.

Пользуясь сухим реактивом Грисса, на одно определение его берут щепотку (0,03—0,05 *г*).

Приготовление шкалы и вычисление результатов производится аналогично предыдущему (см. азот аммиачный).

Реактивы: 1. Приготовление реактива Грисса. а) Раствор сульфаниловой кислоты: растворяют в 150 *мл* 12% уксусной кислоты 0,5 *г* чистой сульфаниловой кислоты.

б) Раствор альфанафтиламина: 0,2 *г* альфанафтиламина кипятят в течение нескольких минут в 20 *мл* воды и отфильтровывают от нерастворившейся части через хорошо промытый фильтр в колбу с 150 *мл* 12% уксусной кислоты.

в) **Реактив Грисса:** 60 *мл* раствора сульфаниловой кислоты и такой же объем раствора альфанафтиламина сливают и хранят в склянке с хорошо притертой пробкой из темного стекла. Раствор не должен быть заметно окрашен.

2. **Стандартный раствор:** 4,927 *г* химически чистого $NaNO_2$ растворяют в 1 *л* дистиллированной воды. Этот раствор содержит 1 *мг* азота в 1 *мл*. Разведением в 100 и еще в 10 раза получают раствор, содержащий 0,001 *мг* азота в 1 *мл*.

Азот нитратный

Определение производят салициловым методом. Салициловая кислота в присутствии нитратов в кислой среде переходит в нитропроизводные фенолы, которые образуют со щелочью соединения, окрашенные в желтый цвет.

Колориметрирование производится при помощи шкалы смесей двухромовокислого калия и хлористого кобальта, иммитирующих окраску нитрофенолов.

Ход определения: 1 *мл* испытуемой воды выпаривают досуха в фарфоровой чашке на водяной бане, не допуская прокаливания (при pH воды ниже 7 воду следует подщелочить). По охлаждении к сухому остатку прибавляют 3 капли раствора салициловой кислоты и 0,5 *мл* серной кислоты уд. веса 1,84.

Сухой остаток тщательно растирают стеклянной палочкой по всей поверхности выпаренного остатка. После 5-минутного стояния пробы прибавляют в нее 5 *мл* дистиллированной воды и 3 *мл* раствора едкого натра. Содержимое чашки хорошо перемешивают, затем переносят в пробирку с меткой на 10 *мл*, после чего доливают до метки дистиллированной водой и вторично хорошо перемешивают. Полученный раствор сравнивают со стандартными.

Приготовление стандартной шкалы. В мерные колбы емкостью 50 *мл* вносят 0,01 н. двухромовокислого калия и 1% хлористого кобальта в указанных в табл. 5 количествах, после чего доливают до метки дистиллированной водой.

Таблица 5

Шкала для определения нитратного азота

0,01 н. $K_2Cr_2O_7$ в *мл*	1% $CoCl_2$ в *мл*	Отвечает по окраске количеству нитратов в *мг/л*
0,87	0,25	0,2
1,75	0,50	0,4
2,25	0,50	0,6
3,00	0,50	0,8
3,75	0,75	1,0
6,0	0,75	2,0
9,0	1,0	3,0
11,0	1,0	4,0
16,5	—	6,0
20,0	—	8,0
24,0	—	10,0

Полученные стандартные растворы разливают в пробирки с меткой на 10 *мл* и закрывают пробками.

Сравнение полученной окраски производят, смотря в пробирку сверху вниз. Стандартная шкала устойчива в течение 2 месяцев.

При содержании хлоридов выше 100 *мг/л* и концентрации нитратов больше 1 *мг/л* рекомендуется перед выпариванием применять разведение пробы.

Реактивы: 1. 0,01 н. раствор двухромовокислого калия.
2. 1% раствор хлористого кобальта.
3. 10% раствор салициловой кислоты.
4. 30% раствор едкого натра.
5. Концентрированная серная кислота (уд. в. 1, 84).

Определение pH

а. Определение pH по Серенсену

Принцип определения состоит в том, что если два водных раствора при прибавлении соответствующего индикатора дают одинаковую окраску, то и pH этих растворов в первом приближении одинаков. Для определения необходимо иметь серию буферных растворов, pH которых известно.

Для подавляющего большинства природных вод по своему диапазону достаточны две системы буферных растворов: боратные смеси Палича и фосфатные смеси Серенсена.

Борно-боратные буферные растворы Палича состоят из 0,1 н. раствора буры и 0,2 *М* раствора борной кислоты, содержащей 0,05 *М* хлористого натрия (табл. 6).

Таблица 6

Борно-боратные буферные смеси Палича

0,1 н. раствор буры в *мл*	0,2 *М* борная кислота в *мл*	pH при 18°	0,1 н. раствор буры в *мл*	0,2 *М* борная кислота в *мл*	pH при 18°
9,68	0,32	9,20	3,08	6,92	8,10
8,92	1,08	9,10	2,72	7,28	8,00
8,16	1,84	9,00	2,38	7,62	7,90
7,43	2,57	8,90	2,06	7,94	7,80
6,73	3,27	8,80	1,78	8,22	7,70
6,08	3,92	8,70	1,50	8,50	7,60
5,50	4,50	8,60	1,29	8,71	7,50
4,96	5,04	8,50	1,08	8,94	7,40
4,46	5,54	8,40	0,91	9,09	7,30
3,96	6,04	8,30	0,76	9,24	7,20
3,50	6,50	8,20	0,61	9,39	7,10

Фосфатные буферные растворы Серенсена приготовляют смешиванием 1/15 *М* раствора однозамещенного фосфорнокислого калия (KH_2PO_4), содержащего 9,078 *г* соли в 1 *л* раствора и 1/15 *М* раствора двухзамещенного фосфорнокислого натрия ($Na_2HPO_4 . 2H_2O$), содержащего 11,876 *г* соли в 1 *л* раствора (табл. 7).

Таблица 7

Фосфатные буферные растворы Серенсена

1/15 *М* Na_2HPO_4 в *мл*	1/15 *М* KH_2PO_4 в *мл*	pH при 18°	1/15 *М* Na_2HPO_4 в *мл*	1/15 *М* KH_2PO_4 в *мл*	pH при 18°
8,06	1,94	7,40	1,88	8,12	6,20
7,12	2,88	7,20	1,25	8,75	6,00
6,10	3,90	7,00	0,82	9,18	5,80
4,94	5,06	6,80	0,52	9,48	5,60
3,76	6,24	6,60	0,34	9,66	5,40
2,70	7,30	6,40	—	—	—

Однозамещенный фосфорнокислый калий перекристаллизовывается из продажной соли. Чистоту полученного препарата проверяют на хлориды и сульфаты, которых не должно содержаться; потери при прокаливании должны составлять 13,23%.

Двухзамещенный фосфорнокислый натрий получают путем перекристаллизации продажной двенадцативодной соли. Выпавшая соль, также двенадцативодная, переводится в двухводную ($Na_2HPO_4.2H_2O$) путем просушивания на листах фильтровальной бумаги на открытом воздухе в течение 10—12 дней, а потом в эксикаторе над $CaCl_2$ до постоянного веса. Окончательный переход двенадцативодной соли в

двухводную контролируется путем определения потери при прокаливании, которая должна составить 25,28% (±0,1%).

Индикаторы для определения pH прибавляются по 5 капель на 10 *мл*.

Для практических целей при определении pH почти всех природных вод можно ограничиться тремя индикаторами: бромкрезоловым пурпурным, феноловым красным и тимоловым синим, применяемым в следующих интервалах pH (табл.8).

Таблица 8

Индикаторы для определения pH

Индикатор	Интервал перехода (pH)		Цвет в кислой и щелочной среде	Концентрация в процентах	Растворитель	0,1 н. раствор NaOH на 0,1 г индикатора
	полный	оптимальный				
Бромфеноловый синий . .	3,0—4,6	3,3—3,9	желтый и синий	0,04%	вода	1,49
Бромкрезоловый пурпурный	5,2—6,8	5,6—6,4	желтый и фиолетовый	0,04%	»	1,85
Бромтимоловый синий . .	6,0—7,6	6,3—7,2	желтый и синий	0,04%	»	1,60
Феноловый красный . . .	6,8—8,4	7,1—7,9	желтый и красный	0,02%	»	2,82
Крезоловый красный . .	7,2—8,8	7,6—8,2	желтый и красный	0,02%	»	2,62
Тимоловый синий . . .	8,0—9,6	8,2—9,0	желтый и синий	0,04%	»	2,15

Примечание. Для определения pH обязательно применяются нейтрализованные индикаторы (NaOH). Отвешенное количество индикатора (0,1 *г*) растирают в ступке пестиком с указанным в табл. 8 количеством щелочи и потом разводят дистиллированной водой до 250 или 500 *мл* для получения указанной в табл. 8 концентрации.

Приготовление шкалы. В хорошо промытую и пропаренную пробирку прибавляют 5 капель индикатора и буферного раствора до черты, соответствующей объему 10 *мл*. Пробирку закрывают хорошо подогнанной резиновой пробкой. Шкалу хранят в деревянном ящике в темноте; в том же ящике хранятся индикаторы в капельницах с резиновыми грушами. Капилляры в капельницах должны быть тонкие, дающие небольшие капли. На все время определения нужно пользоваться теми же капиллярами, при помощи которых была приготовлена шкала.

Ход определения. Испытуемую воду наливают до черты в пробирку и прибавляют к ней раствор индикатора. Пробирку закрывают резиновой пробкой и перевертывают для смешения воды с индикатором. Затем пробирку ставят в штатив или в компаратор между двумя буферными растворами, из которых один более щелочной, другой более кислый, чем испытуемая вода.

Если весь набор с данным индикатором является или более кислым или более щелочным, чем испытуемая вода, то в последнюю выли-

вают из пробирки и производят определение с более подходящим индикатором, судя по результату предыдущего опыта.

Так постепенно отыскивают нужный индикатор.

Интерполяция оттенка испытуемой воды с индикатором между двумя соседними цветами производится с точностью до 1/5 разницы оттенков. При достаточном навыке и при разнице pH двух соседних буферов в 0,1 pH точность определения составляет около 0,02 pH.

При наличии даже небольшой цветности испытуемой воды определение pH следует производить в компараторе, в котором пробирки располагаются следующим образом: задний ряд — буферный раствор с индикатором, испытуемая вода с индикатором, буферный раствор с индикатором; передний ряд—испытуемая вода, дистиллированная вода, испытуемая вода.

Введение поправок. Разница в солевом составе между буферным раствором и испытуемой водой обусловливает необходимость введения значительной поправки в найденную величину pH, причем эта поправка является положительной, когда концентрация электролитов в буфере выше, чем в воде, и отрицательной, в обратном случае. Для пресных вод практическое значение имеет лишь первый случай. Солевые поправки для пресных вод приведены в табл. 9, где указаны величины, на которые необходимо увеличить данные, полученные при определении pH в пресных водах.

Таблица 9

Солевые поправки при определении pH с индикаторами: тимоловым синим, крезоловым красным, феноловым красным и бромтимоловым синим и буферными растворами — боратами Палича и фосфатами Серенсена

Солевой состав воды (в *г* на 1 *л*)	Бораты (содержащие NaCl)	Фосфаты
0,1	+0,23	+0,26
0,2	+0,20	+0,24
0,4	+0,18	+0,22
0,6	+0,16	+0,20
0,8	+0,14	+0,18
1,0	+0,12	+0,16
2,0	+0,06	+0,09

Для обычных определений, не преследующих особой точности, допустимо пользование средней солевой поправкой + 0,20 pH.

В анализе воды следует обязательно указывать, введена ли солевая поправка или нет.

б. Определение pH по Джиллеспи

Этот метод очень простой и дает удовлетворительные результаты.

Он выполняется следующим образом: в пробирку из бесцветного стекла наливают 5—7 *мл* испытуемой воды, добавляют 10 капель

индикатора и полученное окрашивание сравнивают со стандартами. Для приготовления стандартных растворов в две пробирки наливают такой же объем дистиллированной воды (5—7 *мл*) и в одну из них прибавляют каплю щелочи, а в другую кислоты. В зависимости от ожидаемого значения pH прибавляют определенное число капель индикатора к щелочному и кислому раствору (табл. 10), но из такого расчета, чтобы общее число капель равнялось 10. После этого сравнивают окрашивание испытуемого и стандартных растворов в компараторе.

Таблица 10

Таблица для определения pH по методу Джиллеспи

Число капель		Концентрация водородных ионов (pH)						
Пробирки с NaOH	Пробирки с HCl	Бромфеноловый синий	Метиловый красный	Бромкрезоловый пурпурный	Бромтимоловый синий	Феноловый красный	Крезоловый красный	Тимоловый синий
1	9	3,1	4,05	5,3	6,15	6,75	7,15	7,85
1,5	8,5	3,3	4,25	5,5	6,35	6,95	7,35	8,05
2	8	3,5	4,4	5,7	6,5	7,1	7,5	8,2
3	7	3,7	4,6	5,9	6,7	7,3	7,7	8,4
4	6	3,9	4,8	6,1	6,9	7,5	7,9	8,6
5	5	4,1	5,0	6,3	7,1	7,7	8,1	8,8
6	4	4,3	5,2	6,5	7,3	7,9	8,3	9,0
7	3	4,5	5,4	6,7	7,5	8,1	8,5	9,2
8	2	4,7	5,6	6,9	7,7	8,3	8,7	9,4
8,5	1,5	4,8	5,75	7,0	7,85	8,45	8,85	9,55
9	1	5,0	5,95	7,2	8,05	8,65	9,05	9,75

Примечание. При пользовании тимоловым синим в «щелочные» пробирки прибавляется вместо 1 капли по 2 капли раствора NaOH. При пользовании крезоловым красным и тимоловым синим в «кислотные» пробирки вместо 1 капли раствора HCl прибавляется по 1 капле 2% раствора KH_2PO_4, а при пользовании бромфеноловым синим — по 1 *мл* раствора HCl.

Пробирки размещаются в компараторе одна против другой, с одной стороны — со стандартными растворами, а с другой — с испытуемым и с дистиллированной водой. Последняя ставится для компенсации объема. Получив одинаковые окрашивания, находят pH воды.

Концентрация водородных ионов определяется по уравнению:

$$[H] = K \cdot \frac{[HIn]}{[In']},$$

где K — константа диссоциации индикатора, (HIn) — концентрация кислотной формы индикатора, а (In′) — концентрация солевой формы индикатора.

Отсюда:

$$pH = pK - \lg \frac{[HIn]}{[In']}.$$

Отношение $\left|\frac{Hin}{In'}\right|$ определяется соответствующим отношением числа капель в кислом и щелочном растворе шкалы.

Можно пользоваться готовыми табличными данными (табл. 10).

в. Потенциометрическое определение pH

Колориметрическое определение pH окрашенных жидкостей весьма затруднено, а во многих случаях и невозможно. В таких случаях приходится прибегать к потенциометрическому методу, который вообще является более точным, чем колориметрический. Сущность его заключается в определении электродвижущей силы гальванической цепи, составной частью которой является испытуемый раствор. Например, возможно составить гальванический элемент

$$\left(\overset{-}{Pt}\right)H_2 \left| \begin{matrix} H^+ \\ c_2 = x \end{matrix} \right\| \begin{matrix} H^+ \\ c = 1 \end{matrix} \left| H_2\left(\overset{+}{Pt}\right),\right.$$

где концентрация водородных ионов одного раствора (испытуемого) — x, а другого (стандартного)— равняется единице. Если C_2 меньше единицы, платиновая пластинка, опущенная в него, имеет отрицательный заряд, так как на этом электроде при замыкании цепи идет процесс растворения водорода: $H_2 \rightleftarrows 2H^+$, в то время как на другом электроде идет противоположный процесс: $2H^+ \rightleftarrows H_2$, и он приобретает положительный заряд.

Вследствие наличия полупроницаемой перегородки (‖), препятствующей перемешиванию растворов, но не препятствующей переходу ионов под влиянием разности потенциалов, химическая энергия превращается в электрическую. В обычных условиях, где имеет место перемешивание растворов, химическая энергия превращается в тепловую. Уравнение Нернста позволяет связать электродвижущую силу гальванической цепи с концентрацией растворов уравнением.

$$E = \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_1}{C_2}, \qquad (1)$$

где R — газовая постоянная, F — число Фарадея, n — валентность ионов (в нашем случае n = 1), а C_1 и C_2 — концентрация испытуемого и стандартного растворов. При концентрации стандартного раствора I получаем выражение для водородного электрода:

$$E_{H^+} = \frac{RT}{nF} \ln a_{H^+}, \qquad (2)$$

где a_{H^+} обозначает активность водородных ионов (вместо C_{H^+}).

Применяя понятие pH, обозначающее отрицательный логарифм концентрации водородных ионов или, точнее, их активности ($pH = -\lg a_{H^+}$), и подставляя значения постоянных, получаем для температуры 18°:

$$pH = \frac{E_{H^+}}{0{,}058}. \qquad (3)$$

В качестве электрода сравнения удобнее пользоваться не водородным, а каломельным электродом, тогда:

$$pH = \frac{E_x - E_{Hg}}{0{,}058}. \qquad (4)$$

Следовательно, на практике приходится пользоваться гальванической цепью:

$$(Pt)\,H_2 \mid a_{H^+} \parallel Hg_2Cl_2 \mid Hg\,(Pt).$$

При этом задача сводится к приготовлению каломельного электрода и измерению электродвижущей силы указанной цепи.

Каломельный электрод. Применяемая для него металлическая ртуть должна быть тщательно очищена. Для этого ее переносят в чистую склянку с хорошо притертой пробкой, прибавляют несколько *мл* разбавленной азотной кислоты и после прекращения реакции закрывают пробкой и энергично встряхивают несколько минут. Потом промывают ее много раз дистиллированной водой, каждый раз сильно встряхивая и сливая воду после отстаивания. Наконец, хорошо промытую водой ртуть сушат, для чего ее пропускают через фильтр. Для этой цели в сухую воронку вкладывают бумажный фильтр и, проткнув его толстой иголкой, наливают в него ртуть. При прохождении тонкой струйкой через отверстие в фильтровальной бумаге ртуть освобождается от влаги. Если необходимо, эту операцию повторяют, беря новый фильтр. Очищенная ртуть собирается в сухую склянку.

Примечание. Ввиду большой токсичности паров металлической ртути работу с ней нужно проводить таким образом, чтобы было абсолютно исключено разбрасывание малейших ее частиц по столу и по полу, откуда полное удаление ее практически невозможно. Переливание ртути поэтому необходимо производить над предохранительным сосудом в виде большой чашки, кристаллизатора и т. п. По окончании работы пролитая в этот сосуд ртуть тщательно собирается и сохраняется в закрытом сосуде.

Дальше поступают следующим образом. Готовят насыщенный раствор хлористого калия, например 200 *мл*. Потом взбалтывают каломель (продажный препарат) с добавкой металлической ртути с небольшим объемом хлористого калия, пока ртуть не даст с каломелью равномерной тестообразной массы, которая при стоянии больше не разделяется на составные части. Этой смеси дают отстояться, сливают находящуюся над ней жидкость, приливают новую порцию хлористого калия и повторяют таким образом промывание 2—3 раза. В заключение взбалтывают смесь с большей (основной) частью раствора хлористого калия и сохраняют декантированную жидкость для зарядки электрода.

В качестве электродного сосуда может служить стеклянная баночка объемом до 50 *мл*; ее тщательно моют и сушат или ополаскивают вышеуказанной жидкостью. На дно баночки помещают слой чистой сухой или ополоснутой раствором хлористого калия ртути) над ней слой тестообразной массы (каломель, металлическая ртуть,

приблизительно в 1 *см* высоты и наконец хлористого калия, взболтанного с каломелью и металлической ртутью. Баночку закрывают резиновой пробкой с 2 отверстиями, в которые вставляются стеклянная трубка с впаянным кусочком платиновой проволочки (1—1,5 *см*) и сифон, заполненный агар-агаром (электролитический ключ). Трубка с проволочкой заполняется металлической ртутью и служит для снятия потенциала или для замыкания цепи, для чего в нее опускают кончик звонковой прово-

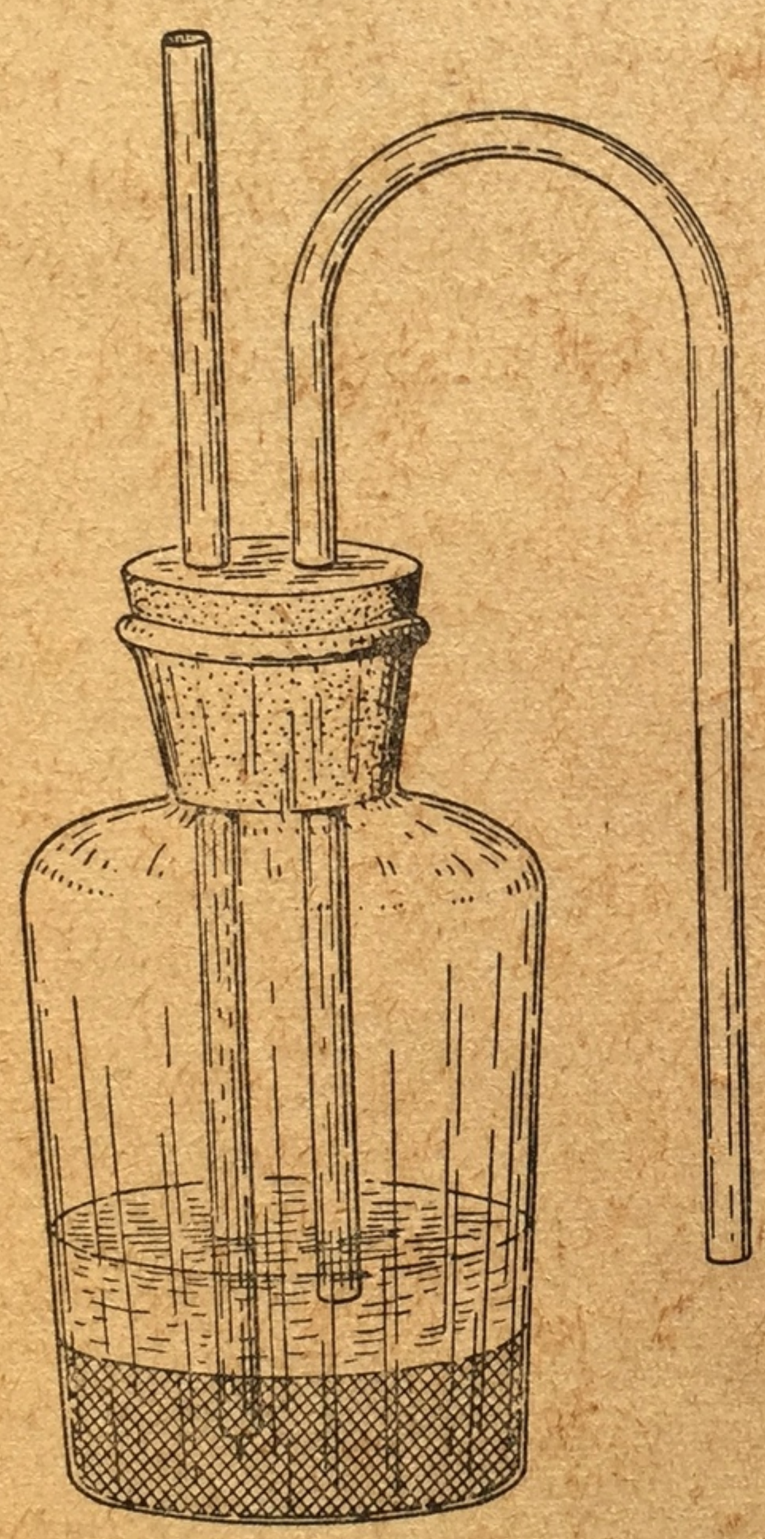


Рис. 3. Каломельный электрод.

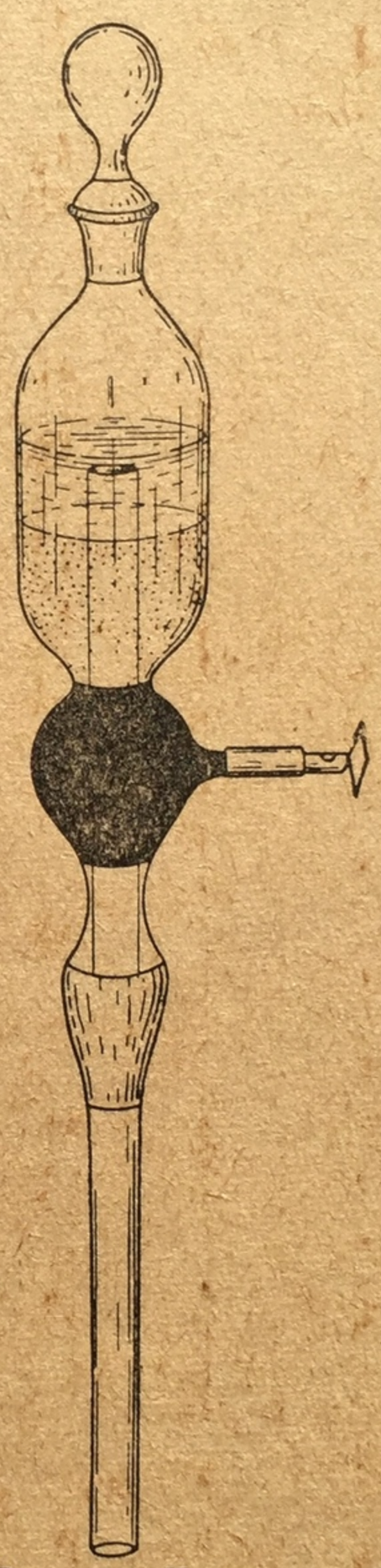


Рис. 4. Каломельный электрод МОСКИП.

локи, идущей во внешней части цепи (рис. 3). Компактно устроен каломельный электрод МОСКИП (рис. 4).

Приготовление электролитического ключа. U-образная стеклянная трубка заполняется агар-агаром. Для этого в фарфоровой чашке растворяют при нагревании 3 *г* агар-агара и прибавляют к нему 10 *г* хлористого калия. Еще теплую и поэтому жидкую массу затягивают ртом при помощи резиновой трубки в U-образную трубку. По охлаждении агаровая трубка готова к употреблению. В ней не должно

содержаться пузырьков воздуха. Агаровые сифоны должны всегда сохраняться опущенными концами в насыщенный раствор хлористого калия.

Второй водородный электрод получается путем пропускания водорода в испытуемый раствор, где происходит его адсорбция на платиновой пластинке, покрытой платиновой чернью. Однако полу-

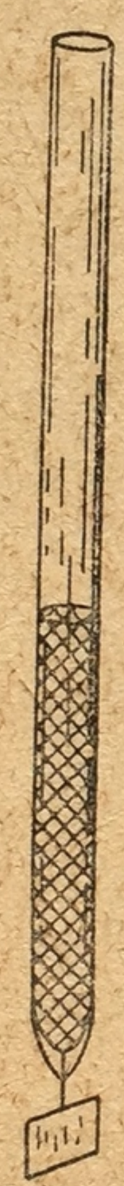


Рис. 5. Платиновый электрод.

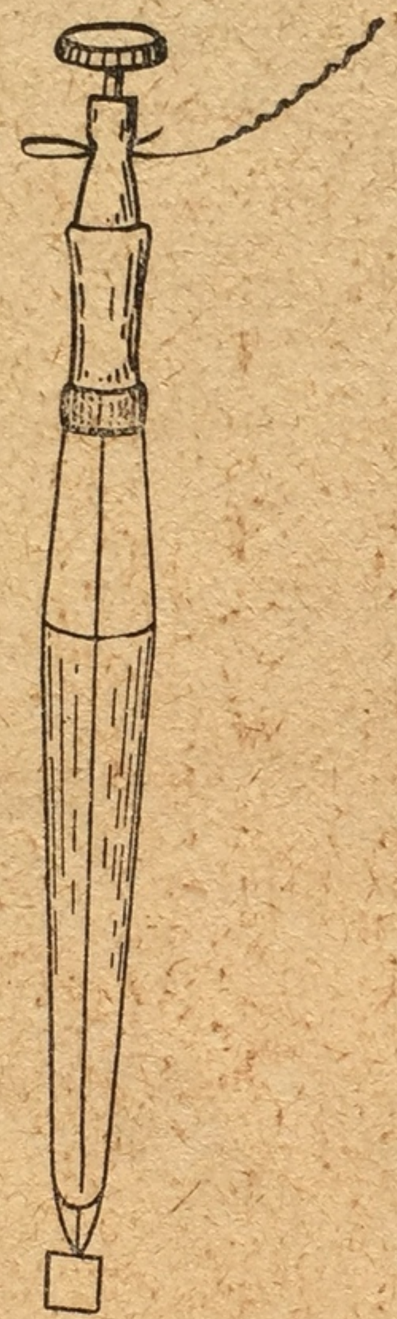


Рис. 6. Платиновый электрод МОСКИП.

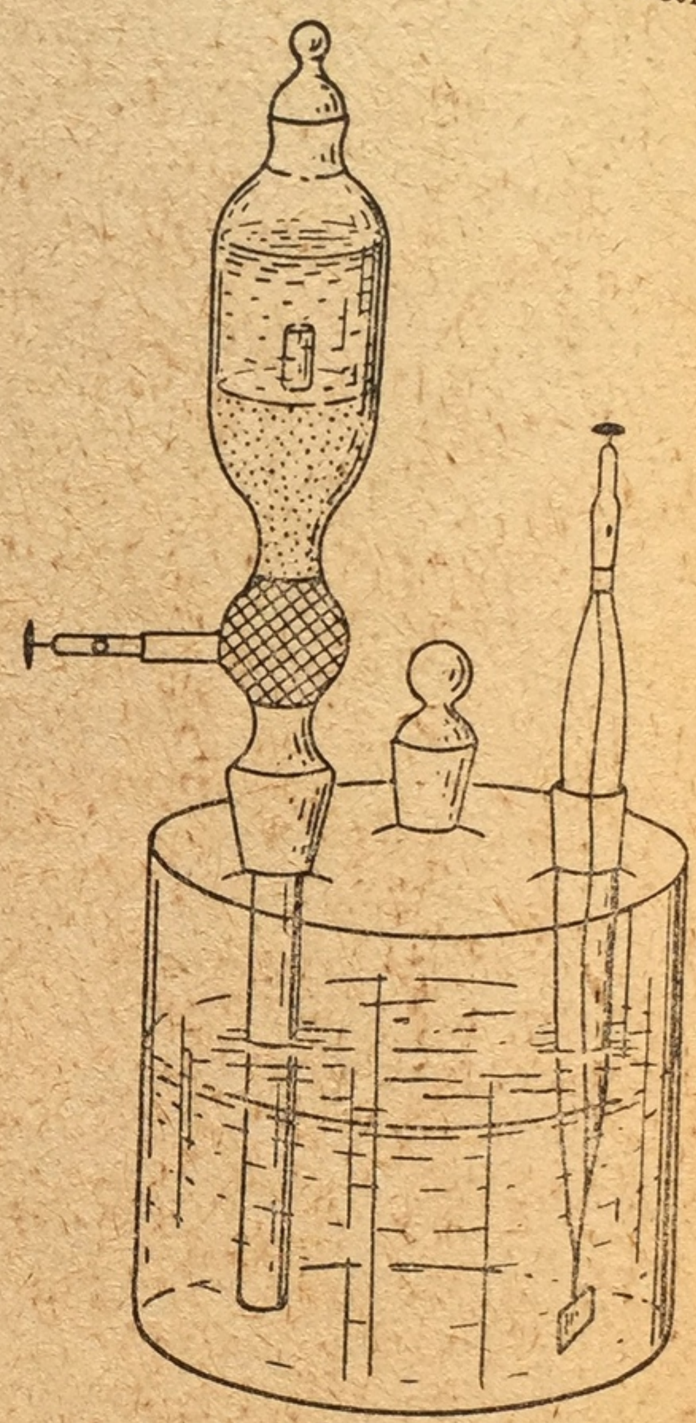


Рис. 7. Каломельно-хингидронный элемент.

чение водорода и его очистка сопряжена с рядом технических неудобств, поэтому мы ограничимся описанием хингидронного электрода, заменяющего водородный электрод.

Хингидронный электрод. Он представляет из себя сосудик с испытуемым раствором, в который вносят щепотку хингидрона и опускают платиновый электрод, состоящий из стеклянной трубки с впаянной в нее платиновой пластинкой (рис. 5).

Для контакта с медной проволочкой внешней цепи трубка наполняется металлической ртутью или платиновая пластинка припаивается к проволочке, соединенной с металлической головкой электрода, в случае заводского изготовления последнего (рис. 6). При определении pH по этому методу нужно следить за тем, чтобы произошло полное насыщение раствора хингидроном, для чего необходимо добавлять его в достаточном количестве, раствор несколько

раз перемешать путем встряхивания и выждать около 5 минут до установления равновесия.

Потенциал хингидронного электрода составляет 0,7044 *в*, потенциал каломельного насыщенного электрода 0,2503 *в*, откуда потенциал хингидронно-каломельного гальванического элемента равняется 0,4541 *в*. Уравнение (4) для вычисления pH в этом случае приобретает вид:

$$pH = \frac{0{,}4541 - E}{0{,}058} \text{ (при } 18^\circ\text{)}, \qquad (5)$$

где E — найденная электродвижущая сила в цепи хингидронно-каломельного элемента (рис. 7).

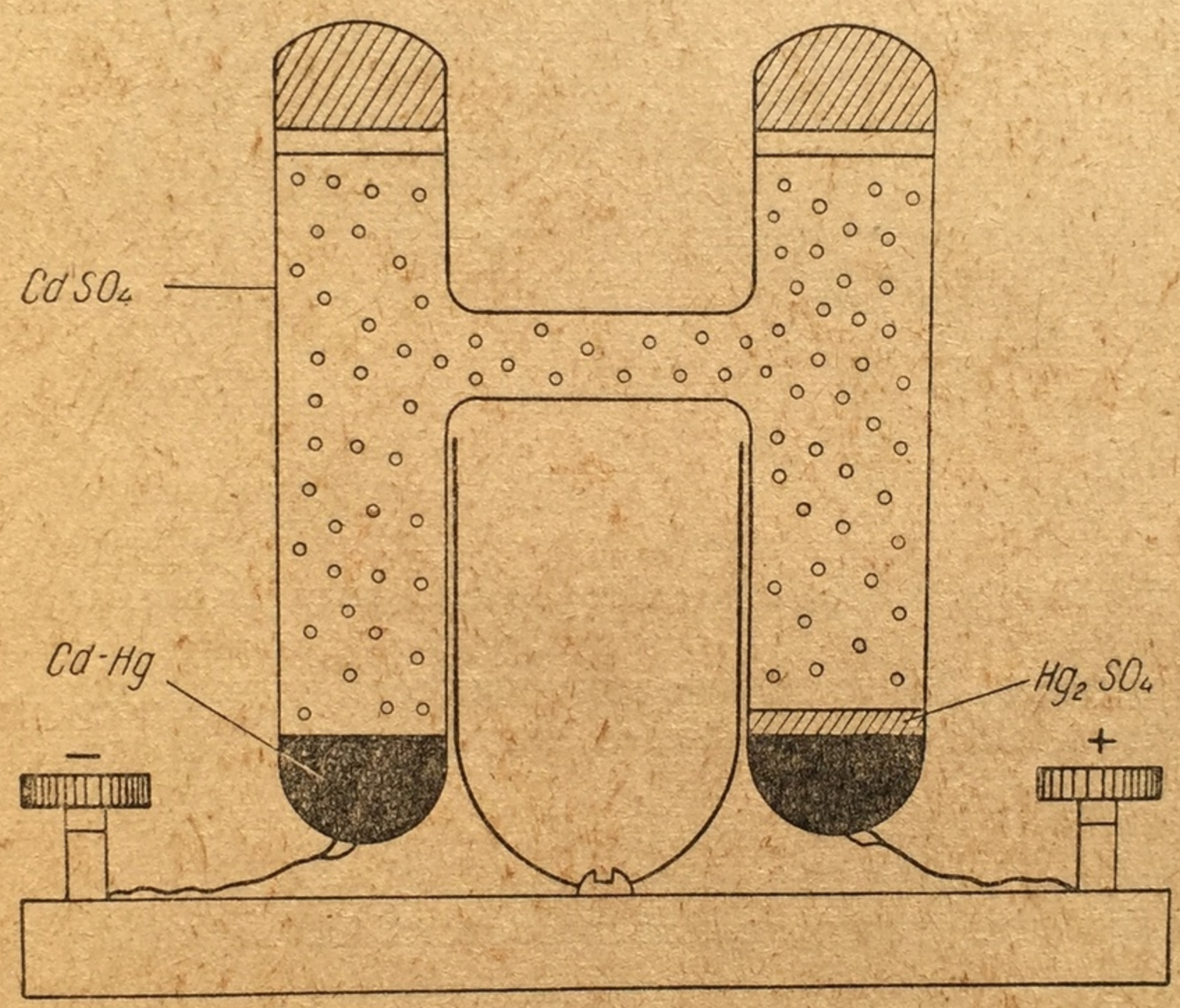


Рис. 8. Элемент Вестона.

Нормальный элемент. Для определения электродвижущих сил необходимо иметь гальванический элемент сравнения, электродвижущая сила которого известна. В качестве нормального стандартного элемента пользуются элементом Вестона, электродвижущая сила которого составляет 1,0183 вольт. Принципиальная схема его следующая:

$$Cd|CdSO_4||Hg_2SO_4|Hg.$$

Устройство его показано на рис. 8.

Определение электродвижущей силы элемента. Определение электродвижущей силы гальванического элемента производится методом компенсации по Поггендорфу. Принципиальная схема его представлена на рис. 9, где A — аккумулятор на 2 *в*, N — нормальный гальванический элемент, электродвижущая сила которого известна,

и X— испытуемый гальванический элемент, электродвижущая сила которого E определяется, R — реохорд, представляющий линейку с натянутой на ней тонкой проволокой. Линейка разделена на миллиметры.

Как видно из схемы, аккумулятор подключен на всю длину реохорда. Нормальный и испытуемый элементы включены по принципу противотока — плюс на плюс и минус на минус. Сначала находят точку компенсации, например, для нормального элемента, а потом

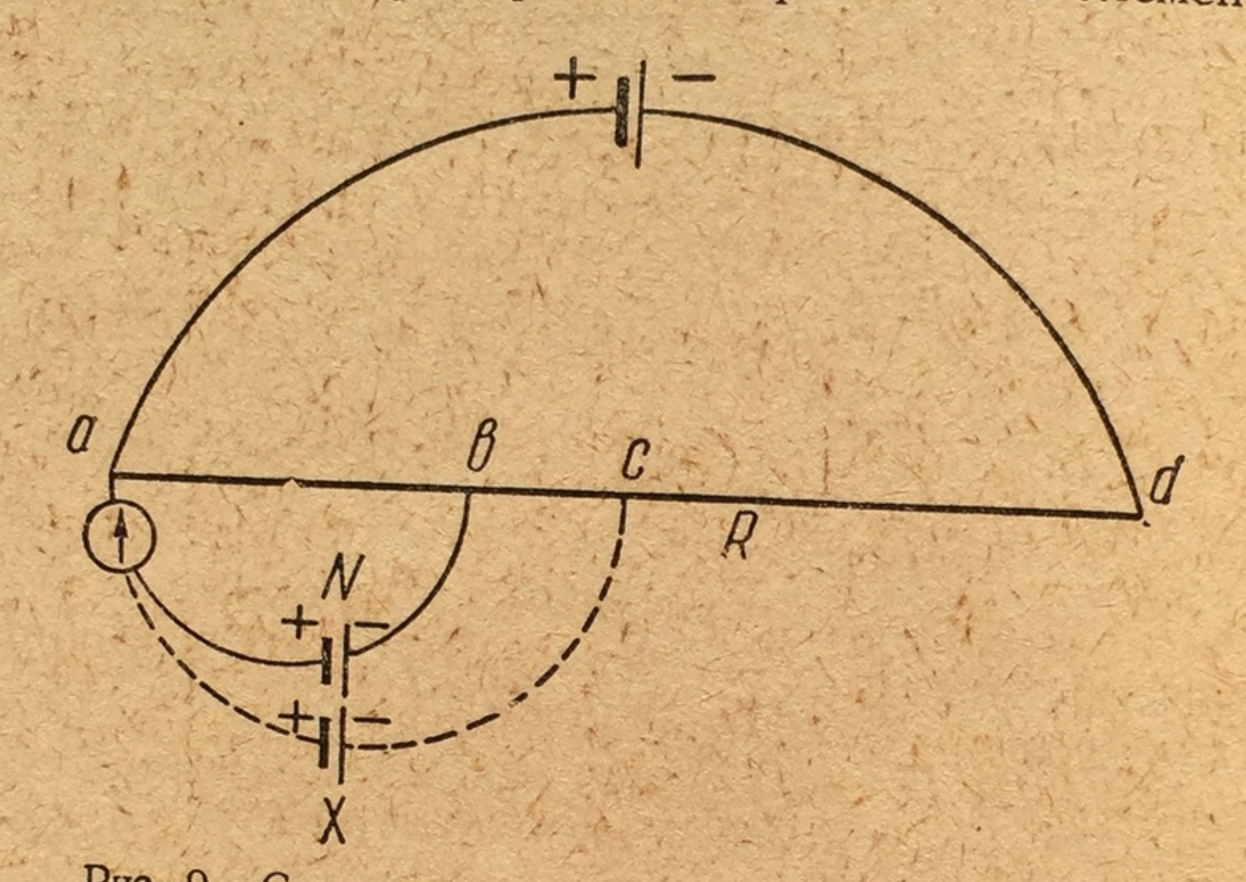


Рис. 9. Схема определения электродвижущих сил.

для испытуемого. Допустим, что эти точки составляют *в* для нормального элемента и *c* для испытуемого, тогда:

$$\frac{ab}{ac}=\frac{E_N}{E_x}, \text{ откуда } E_x = \frac{ac}{ab} E_N,$$

где *ac* и *ав* измеряются длиной проволоки на реохорде, а E_N — 1,0183 *в*.

Вместо реохорда удобно пользоваться потенциометром, основную часть которого составляет набор сопротивлений, соответствующих сотням, десяткам и единицам милливольт. Пользуясь им, находят непосредственно электродвижущую силу гальванического элемента, выражаемую в милливольтах. В переносных потенциометрах аккумулятор, нормальный элемент и гальванометр вмонтированы в один ящик с набором сопротивлений. В стационарных установках они находятся отдельно от собственно потенциометра и подключаются к нему только на время работы. Эта установка, разумеется, более точная, чем переносной потенциометр.

Определение pH при помощи потенциометра. Подсоединяют к потенциометру (рис. 10) аккумулятор на 2 *в*, включив в цепь ползунковый реостат, облегчающий достижение компенсации. Включение аккумулятора производится согласно указаниям на клеммах: плюс на плюс и минус на минус. Потом таким же образом в указанном на панели месте подсоединяется нормальный элемент и

гальванометр. Освобождают стрелку гальванометра от арретира, подгоняют ее путем поворота винта в нулевое положение. Наконец, подсоединяют в указанном месте на панели потенциометра испытуемую гальваническую цепь. Проверяют правильность монтирования всей установки, проверяют контакты и производят определение.

Переводят рычажок на включение нормального элемента и находят точку компенсации при помощи регулировочных ручек настройки, сначала грубой, а потом плавной. Добиваются нулевого положения гальванометра и переводят рычажок на рабочее положение,

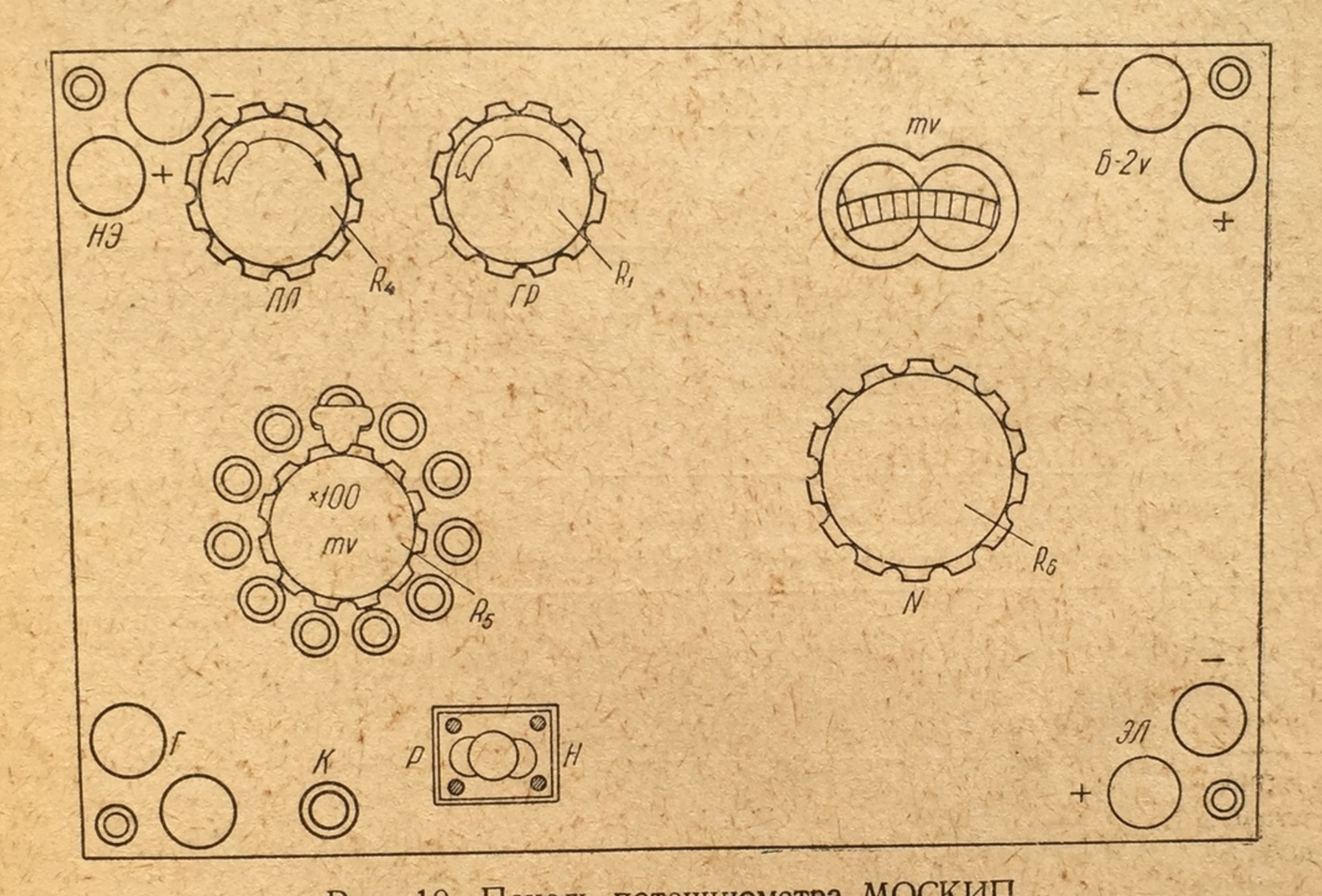


Рис. 10. Панель потенциометра МОСКИП.

соответствующее включению испытуемого элемента. Теперь находят точку компенсации путем включения сопротивлений, сначала соответствующих сотням милливольт, а потом более мелким значениям путем поворота ручки барабана с натянутой на нем проволокой сопротивления. Достигнув компенсации, записывают результат, представляющий величину искомой электродвижущей силы.

Значение pH в случае применения хингидронного и каломельного электродов вычисляется по формуле (5). Можно воспользоваться также готовыми табличными данными (табл. 11).

Пользуясь этой таблицей, составленной для температуры 18°С, в случае условий, отличающихся от этой температуры, необходимо учитывать соответствующие поправки, приведенные в табл. 12.

Нужно иметь в виду, что хингидронный метод не применим для щелочных растворов (pH $>$ 8,0). В этом отношении наиболее подходящим является стеклянный электрод, представляющий тонкостенный стеклянный шарик, наполненный раствором соляной кислоты определенной концентрации (0,1 н.). Стенки шарика

Таблица 11

Значение величины водородного числа pH в зависимости от показаний потенциометра в милливольтах при измерении по хингидронно-каломельному методу при 18°С

Единицы милливольт до 10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Водородное число pH	7,85	7,835	7,82	7,80	7,78	7,765	7,75	7,73	7,715	7,70
Десятки мв	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Сотни мв 0 Число	—	7,696	7,523	7,350	7,176	7,003	6,830	6,656	6,483	6,310
100 pH	6,136	5,963	5,790	5,616	5,443	5,270	5,097	4,923	4,750	4,577
200	4,403	4,230	4,057	3,883	3,710	3,537	3,363	3,196	3,017	2,844
300	2,670	2,497	2,323	—						

Отрицательные добавки pH при числе милливольт более 10, когда величина разности потенциалов оканчивается единицами милливольт

Единицы милливольт	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Отрицательная добавка pH	0,0173	0,0347	0,0570	0,0693	0,0867	0,1040	0,1213	0,1386	0,1560

Таблица 12

Поправки на температуру при измерении по хингидронно-каломельному методу и температурах, отличающихся от 18°С

pH от-до \ T° C	15°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	24°	25°
1—1,5	+0,01	0	0	0	—0,01	—0,02	—0,03	—0,03	—0,04	—0,04	—0,05
1,5—2	+0,01	+0,01	0	0	—0,01	—0,02	—0,03	—0,04	—0,05	—0,05	—0,06
2—2,5	+0,02	+0,01	0	0	—0,02	—0,03	—0,04	—0,04	—0,05	—0,06	—0,07
2,5—3	+0,03	+0,01	0	0	—0,02	—0,03	—0,04	—0,05	—0,06	—0,07	—0,08
3—3,5	+0,03	+0,02	+0,01	0	—0,02	—0,03	—0,05	—0,06	—0,07	—0,08	—0,10
3,5—4	+0,03	+0,02	+0,01	0	—0,02	—0,04	—0,05	—0,07	—0,08	—0,09	—0,11
4—4,5	+0,04	+0,02	+0,01	0	—0,03	—0,04	—0,06	—0,07	—0,09	—0,10	—0,12
4,5—5	+0,05	+0,03	+0,01	0	—0,03	—0,04	—0,06	—0,08	—0,10	—0,11	—0,13
5—5,5	+0,05	+0,03	+0,01	0	—0,03	—0,05	—0,07	—0,09	—0,11	—0,13	—0,14
5,5—6	+0,06	+0,03	+0,01	0	—0,03	—0,05	—0,07	—0,09	—0,11	—0,14	—0,16
6—6,5	+0,06	+0,04	+0,01	0	—0,03	—0,05	—0,08	—0,10	—0,12	—0,15	—0,17
6,5—7	+0,07	+0,04	+0,02	0	—0,03	—0,06	—0,08	—0,11	—0,13	—0,16	—0,18
7—7,5	+0,07	+0,04	+0,02	0	—0,04	—0,06	—0,09	—0,11	—0,14	—0,17	—0,19

настолько тонкие, что не препятствуют прохождению через них электрического тока.

В настоящее время в продаже имеются pH-метры в собранном виде со стеклянными электродами, позволяющие определять pH на всем протяжении шкалы.

Щелочность

Щелочность обусловливается суммой содержащихся в воде бикарбонатов, карбонатов и гидратов, а также и других солей слабых кислот, вступающих в реакцию с кислотой. Щелочность выражают в *мг-экв/л*.

Практически щелочность соответствует концентрации гидрокарбонатных ионов (HCO_3'), если в воде отсутствуют карбонаты (CO_3''). Концентрация гидрокарбонатных ионов в *мг* определяется умножением величины щелочности на эквивалент $HCO_3' = 61$.

Определение щелочности с метилоранжем, как это обычно делается, не дает точных результатов; поэтому по стандартной методике рекомендуется определять щелочность со смешанным индикатором с продуванием для удаления углекислоты.

Ход определения. К 100 *мл* испытуемой воды прибавляют 6—8 капель смешанного индикатора и титруют 0,1 н. раствором соляной кислотой до порозовения. Затем раствор продувают 3 минуты при помощи резиновой груши воздухом, лишенным углекислоты. Пожелтевший раствор оттитровывают окончательно до розовой окраски. В качестве поглотителей углекислоты применяют трубки, наполненные аскаритом или натронной известью.

Щелочность (X) вычисляется по формуле: $X = V \cdot K$ *мг-экв/л*, где V — объем 0,1 н. кислоты, пошедшей на титрование.

Реактивы: 1. 0,1 н. соляная кислота.
2. Смешанный индикатор (см. стр. 19).

Карбонатная жесткость

Практически щелочность воды соответствует содержанию в ней гидрокарбонатов кальция и магния, поэтому карбонатная жесткость практически равняется щелочности воды, выраженной в *мг-экв* на литр. Для выражения карбонатной жесткости в градусах указанное число *мг-экв* умножают на 2,8.

Хлориды

а) Определение хлоридов по Мору

Сущность метода состоит в титровании хлоридов азотнокислым серебром в присутствии хромовокислого калия в качестве индикатора. При этом происходят следующие реакции.

Сначала происходит осаждение хлоридов ионами серебра:

$$Cl' + Ag^{\cdot} \rightarrow AgCl \text{ (белый осадок).}$$

После того как все ионы хлора свяжутся серебром, начинается следующая реакция:

$$CrO_4'' + 2Ag^{\cdot} \rightarrow Ag_2CrO_4 \text{ (красно-бурый осадок).}$$

Конец титрования определяется по изменению цвета раствора — от зелено-желтого (окраска хромовокислого калия в растворе) к желто-бурому цвету (окраска хромовокислого серебра).

Указанная последовательность образования осадков — AgCl и Ag_2CrO_4 вытекает из их различной растворимости: сначала образуется менее растворимый осадок, т. е. осадок вещества, произведение растворимости которого составляет меньшую величину и, следовательно, более легко достигаемую.

Метод Мора не применим в сильно кислой или щелочной среде.

Ход определения. Титруют 100 *мл* исследуемой воды 0,01 н. раствором азотнокислого серебра в присутствии хромовокислого калия. На 100 *мл* титруемой воды прибавляют 15 капель 10% раствора хромовокислого калия. Титрование необходимо проводить в присутствии свидетеля и пользоваться поправкой на индикатор. Производят глухой опыт с дистиллированной водой, для иммитации осадка хлористого серебра к дистиллированной воде можно прибавить немного порошка, например $CaCO_3$, не содержащего хлоридов.

Вычисление. Количество хлоридов $X = V \cdot K \cdot 0{,}355 \cdot 10$ *мг/л*, где V — объем израсходованного раствора азотнокислого серебра.

Реактивы: 1. азотнокислое серебро, 0,01 н. раствор,
2. хромовокислый калий, 10% раствор.

б) Определение хлоридов меркурометрическим методом

Меркурометрический метод определения хлоридов основан на образовании малодиссоциированной хлорной ртути, причем избыток ионов ртути дает с дифенилкарбазоном фиолетовую окраску.

Ход определения. В коническую колбу отмеривают пипеткой 100 *мл* исследуемой воды, прибавляют 0,2 *мл* концентрированной азотной кислоты и 0,5*мл* 1% спиртового раствора дифенилкарбазона и титруют азотнокислой окисной ртутью до появления фиолетового окрашивания.

Дифенилкарбазон дает окраску лишь после того, как в растворе все ионы хлора будут связаны в малодиссоциированные молекулы ($HgCl_2$) и одна капля $Hg(NO_3)_2$ создаст избыточное количество ионов Hg.

Окраска, образуемая индикатором, зависит от его концентрации в растворе, поэтому необходимо титрование испытуемой воды и установку титра раствора азотнокислой окисной ртути проводить в одинаковых условиях в части количества взятого индикатора.

Применяя сантинормальный раствор азотнокислой ртути, количество *мг* хлоридов в литре испытуемой воды определяется по формуле:

$$X = V \cdot K \cdot 0{,}355 \cdot 10 \ \textit{мг/л},$$

где V — объем азотнокислой окисной ртути, пошедшей на титрование.

Реактивы: 1. Титрованный раствор азотнокислой окисной ртути — 0,05, 0,03 и 0,01 норм. в зависимости от анализируемых вод. Раствор хранится в темной склянке.

2. Титрованный раствор хлористого натрия или хлористого калия для точной установки титра раствора азотнокислой окисной ртути.

3. 1% спиртовый раствор дифенилкарбазона. При растворении дифенилкарбазона в спирте возможно появление легкой мути, которая отфильтровывается.

4. Концентрированная азотная кислота — удельный вес 1,4.

Установка титра раствора $Hg(NO_3)_2$. Установка титра раствора азотнокислой ртути должна быть проведена в тех же условиях, как и определение хлоридов в исследуемой воде. В коническую колбу отмеривают пипеткой 10 *мл* титрованного раствора хлористого натрия, который затем разбавляют дистиллированной водой до 100 *мл*.

Затем прибавляют 0,2 *мл* концентрированной азотной кислоты и 0,5 *мл* 1% раствора дифенилкарбазона и проводят титрование раствором азотнокислой окисной ртути до появления фиолетового окрашивания.

Сульфаты

а) Весовой метод

200—500 *мл* исследуемой воды выпаривают в химическом стакане на песочной бане до объема 50—60 *мл*, прибавляют 1,0 *мл* соляной разведенной (1 : 1) кислоты и, сняв с огня, сразу же к горячему раствору прибавляют по каплям и при помешивании также нагретый до кипения 5% раствор хлористого бария.

Последний должен прибавляться в избытке, что определяется по прекращению образования осадка (после отстаивания осадка дальнейшее прибавление осадителя не должно вызывать помутнения раствора). Спустя несколько часов или на другой день после отстаивания осадка его фильтруют через небольшой плотный (синяя лента) беззольный фильтр, промывают дистиллированной водой после полного перенесения из стакана на фильтр. Под конец промывания фильтрат проверяют в отдельной порции на полноту промывания, для чего часть его собирают непосредственно из воронки на часовое стекло и прибавляют к нему каплю раствора азотнокислого серебра. Если фильтрат не мутнеет, промывание считают законченным. Осадок сушат на воронке в сушильном шкафу, а потом сжигают во взвешенном и доведенном до постоянного веса фарфоровом тигельке. Нагревание производится до температуры не выше 800°, так как

в противном случае может происходить частичное разложение осадка.

Количество сульфатов = $a \cdot 0{,}4114 \cdot q \cdot 1000$ *мг* SO_4'' в 1 *л*, где — а найденный вес $BaSO_4$ в *г*, 0,4114 — коэффициент для пересчета на SO_4'', q — коэффициент для приведения результатов к 1 *л*; так, если для анализа взято 200 *мл* воды, то q = 1000 : 200 = 5.

Реактивы: 1. 5% раствор хлористого бария.
2. Соляная кислота (1 : 1).
Фильтры беззольные, 9 *см*, синяя лента.

Примечание. 1. При отсутствии достаточно плотных фильтров беззольные фильтры для уплотнения обрабатывают предварительно на воронке кипящей дистиллированной водой.

2. Для анализа вод, содержащих очень много сульфатов, достаточно брать 50 *мл* испытуемой воды. Для ориентации в случае вод неизвестного происхождения производят качественную реакцию: отбирают 5—10 *мл* испытуемой воды в пробирку, прибавляют несколько капель соляной кислоты (1 :1) и несколько *мл* 5% раствора хлористого бария. По количеству осадка судят о концентрации сульфатов и делают вывод о необходимом объеме испытуемой воды и количестве осадителя.

б) Объемный метод

Принцип метода. К определенному объему исследуемой воды прибавляют избыток суспензии $BaCrO_4$, смесь подкисляют и нагревают. При этом происходит реакция:

$$BaCrO_4 + K_2SO_4 = BaSO_4 + K_2CrO_4.$$

После нейтрализации аммиаком и охлаждения раствор доводят до определенного объема, $BaSO_4$ и избыток $BaCrO_4$ отфильтровывают, отбирают аликвотную часть раствора и титруют йодометрически, определяя количество CrO_4'', эквивалентное SO_4''.

Ход определения. 200 *мл* исследуемой воды подкисляют 1 *мл* соляной кислоты (1 : 1), нагревают до кипения, прибавляют 5 *мл* 2,5% суспензии $BaCrO_4$, которую предварительно взбалтывают, и кипятят около 5 минут, потом нейтрализуют по каплям раствором аммиака (1 : 1) и дают отстояться до полного охлаждения раствора. Аммиак прибавляется в избытке, который определяется по индикатору (лакмусовая бумажка) или по запаху. При нейтрализации раствора выпадает осадок $BaCrO_4$, и раствор меняет оранжевый цвет на желтый. После охлаждения раствор с осадком переносят в мерную колбу на 250 *мл*, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через плотный фильтр (синяя лента), отбрасывая первые порции фильтрата. Отмеривают аликвотную часть фильтрата (100 *мл*), прибавляют около 0,5 *г* кристаллического KJ, 10 *мл* (1: 1) соляной кислоты и через 5 минут титруют 0,01 н. раствором гипосульфита. 1 *мл* последнего соответствует 0,32 *мг* SO_4''.

$$[SO_4''] = V \cdot 0{,}32 \cdot q,$$

где V — объем точно 0,01 н. раствора гипосульфита, ушедшего на титрование, q — коэффициент для приведения результатов к 1 *л*.

$$q = \frac{1000 \times 250}{200 \times 100} = 5 \times 2{,}5 = 12{,}5,$$

где 250 — объем фильтрата,
200 — объем испытуемой воды,
100 — объем воды, взятой для титрования.

Примечание. Проведению количественного определения обязательно должна предшествовать качественная реакция. Для этого наливают в пробирку испытуемой воды (10 *мл*), подкисляют ее несколькими каплями соляной кислоты (1 : 1) и прибавляют раствор хлористого бария (5%).

В зависимости от количества выпавшего осадка $BaSO_4$ намечают технику количественного определения SO_4''. Если концентрация его превышает 200 *мг/л*, для анализа берут 100, 50 или 25 *мл* испытуемой воды, разводят ее дистиллированной водой до 200 *мл* и ведут определение, как описано.

Проведение качественной реакции и варьирование метода в зависимости от количества SO_4'' обязательно.

Необходимые реактивы: 1. $BaCrO_4$ — продажный препарат. Он может быть приготовлен также в лаборатории из K_2CrO_4 и $BaCl_2$. Для этого берут 24,43 *г* $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ на 500 *мл* и 19,42 *г* K_2CrO_4 на 300 *мл* дистиллированной воды. Осаждение производится в кипящем растворе. Осадок тщательно промывают горячей дистиллированной водой, подкисленной уксусной кислотой, затем дистиллированной водой до полного удаления растворимых солей и сушат.

2. Соляная кислота (1 : 1).
3. 10% аммиак.
4. Йодистый калий кристаллический.
5. 0,01 н. раствор гипосульфита.
6. 0,01 н. раствор йодноватокислого калия для установления поправки $Na_2S_2O_3$ (получают растворением 0,3570 *г* KJO_3 в 1 *л*).

Железо

а) Общее содержание железа

Отмеривают в плоскодонную колбочку 50 *мл* исследуемой воды, прибавляют 1 *мл* азотной кислоты (1 : 1), несколько кристалликов персульфата аммония или другого окислителя ($KClO_3$, H_2O_2), нагревают до кипения и кипятят на протяжении 10 минут. По охлаждении к нему прибавляют 1 *мл* 50% раствора роданистого аммония и перемешивают.

В другую колбочку прибавляют 50 *мл* дистиллированной воды, те же реактивы и приливают из микробюретки или микропипетки стандартный раствор железо-аммиачных квасцов до уравнения окраски с испытуемым раствором.

Зная концентрацию применяемого стандартного раствора и количество его, ушедшее на титрование, находят общее количество железа в исследуемой воде:

количество железа = V · T · 20 *мг/л*,

где V — объем пошедшего на титрование стандартного раствора в *мл*, T — концентрация железа в *мг/мл*.

Вместо описанного метода титрования можно применять метод колориметрирования в цилиндрах Генера или с помощью фотоколориметра.

Реактивы: 1. Стандартный раствор железа, содержащий 0,1 *мг* железа в 1 *мл:* растворяют 0,8636 *г* железо-аммиачных квасцов в мерной литровой колбе в небольшом объеме дистиллированной воды, прибавляют несколько капель концентрированной соляной кислоты и доводят до метки дистиллированной водой.

2. Роданистый аммоний, 50% раствор.
3. Персульфат аммония, в кристаллах.
4. Азотная кислота (1 : 1).

б) Закисное железо

Закисное железо определяется из разности содержания общего и окисного железа. Последнее определяют описанным методом в свежей неокисленной воде.

Сероводород

Количественное определение сероводорода производится лишь при явном ощущении его запаха. Определение производится на месте взятия пробы.

В коническую колбу на 250 *мл*, на которой нанесена метка на 111 *мл*, наливают 10 *мл* 0,01 н. раствора йода и 1 *мл* 50% уксусной кислоты, потом туда же приливают из батометра до метки воды, непосредственно взятой из источника.

Избыток йода оттитровывают 0,01 н. раствором гипосульфита. 1 *мл* 0,01 н. раствора гипосульфита соответствует 0,17 *мг* H_2S. Метод применим при содержании сероводорода не менее 0,2 *мг/л*.

Реактивы: 1. 0,01 н. раствор йода.
2. 0,01 н. раствор гипосульфита.
3. 1% раствор крахмала.
4. 50% раствор уксусной кислоты.

Фосфаты

Для определения фосфатов в природных водах наиболее простым и быстрым является колориметрический метод Дениже-Аткинса.

Принцип метода основан на том, что фосфорнокислые соли в присутствии молибденовокислого аммония и хлористого олова при строго определенной кислотности дают комплексное соединение, окрашенное в синий цвет.

Определение. В мерные колбочки на 100 *мл* вносят 0,2; 0,4; 0,6 и т. д. *мл* стандартного раствора и доводят дистиллированной водой

до метки. Затем в колбочки со стандартным раствором и с испытуемой водой прибавляют от 2 до 9 капель раствора хлористого олова, после чего растворы вновь перемешивают. Образуется голубое окрашивание.

Колориметрирование в цилиндрах Генера производят не ранее 5 и не позже 30 минут после прибавления реактивов.

При содержании фосфатов свыше 1 *мг/л* PO_4''' рекомендуется разведение.

Ввиду изменяемости количества фосфатов в испытуемой воде во времени определение их необходимо производить по возможности быстрее (в течение первых суток по взятии пробы). В противном случае рекомендуется воду консервировать хлороформом или толуолом в количестве 2 *мл* на литр.

Реактивы: 1. 10% раствор молибденовокислого аммония.

2. 50% (по объему) раствор серной кислоты.

Растворы первый и второй смешиваются в отношении 1 : 3. Реактив должен храниться в склянке из темного стекла с притертой пробкой.

3. 3—5% раствор медного купороса.

4. Измельченное металлическое олово.

5. Концентрированная соляная кислота с удельным весом 1,19.

6. Раствор хлористого олова в соляной кислоте. На аналитических весах отвешивают 0,1 *г* х. ч. измельченного металлического олова. Измельчение олова производят, пользуясь его свойством растираться в порошок при температуре 200°. Растирают олово в фарфоровой подогретой ступке пестиком, также подогретым.

Навеску помещают в пробирку, прибавляют 2 *мл* концентрированной соляной кислоты и одну каплю 3—5% медного купороса; пробирку закрывают пробкой с проходящей через нее стеклянной трубкой с оттянутым концом в виде капилляра.

Растворение производят при слабом нагревании (пробирку помещают в стакан с водой и нагревают на электрической плитке).

Как только процесс растворения закончен, добавляют дистиллированной воды до объема 10 *мл*. Раствор хлористого олова должен готовиться в день анализа.

7. Основной стандартный раствор кислой фосфорнокислой соли KH_2PO_4, содержащий 100 *мг/л* PO_4''' (142,3 *мг/л* KH_2PO_4).

Разведением основного раствора в 10 и 100 раз получаются стандартные растворы, содержащие 0,01 и 0,001 *мг/мл* PO_4'''. Все растворы PO_4''' консервируют хлороформом (2 *мл* хлороформа на 1 *л*).

Кремнекислота

Растворенная кремнекислота в кислом растворе дает с молибденовокислым аммонием окрашенную в интенсивно желтый цвет кремнемолибденовую кислоту состава: $SiO_2 \cdot 12MoO_3 \cdot nH_2O$.

Окраску кремнемолибденовой кислоты сравнивают с окраской стандартного раствора пикриновой кислоты.

Определение. К 100 *мл* исследуемой воды прибавляют 2 *мл* 10% раствора молибдата аммония и 4 капли 50% серной кислоты Полученное желтое окрашивание по прошествии 20 минут сравнивают с цветом образцовых растворов пикриновой кислоты, отвечающих 2,5, 5,0 и т. д. *мг* кремния на 1 *л*. В случае надобности берут более крепкие или более слабые стандарты.

Реактивы: 1. 10% раствор молибденовокислого аммония в воде. Реактив приготовляют растворением молибдата на холоду. Хранение готового реактива больше 10 дней не рекомендуется. Для экспедиционных целей удобно заготовлять заранее навески по 10 *г* соли.

2. 50% (по объему) серная кислота в капельнице.

3. Раствор пикриновой кислоты — 258 *мг* в 1 литре, иммитирующий окраску, соответствующую 250 *мг* элементарного кремния. 1 *мл* такого раствора, доведенный до 100 *мл* дистиллированной водой, отвечает содержанию 2,5 *мг* элементарного кремния в литре.

Общая жесткость

Трилонометрическое определение суммы кальция и магния. Определение суммарного содержания кальция и магния (общей жесткости) основано на применении трилона Б—кислой натриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты, который в щелочной среде образует с ионами кальция и магния комплексы.

Определение производится титрованием исследуемой пробы раствором трилона Б в присутствии индикатора, кислотного хром-синечерного, дающего окрашенное соединение с ионами Mg, причем в комплекс сперва связываются ионы Ca, а затем уже ионы магния.

Ионы магния вызывают особенно резкий переход окраски индикатора в умеренной щелочной среде:

$$Mg^{\cdot\cdot} + \underset{\text{голубой}}{HInd''} \rightleftarrows \underset{\text{винно-красный}}{MgInd'} + H^{\cdot}.$$

Трилон Б извлекает в конце титрования ионы магния из его соединения с индикатором, в результате чего в точке эквивалентности меняется окраска раствора:

$$\underset{\text{винно-красный}}{MgInd'} + H_2T'' \rightleftarrows MgT'' + \underset{\text{голубой}}{HInd''} + H^{\cdot}.$$

Ионы кальция не дают четкого изменения окраски индикатора, и их поэтому можно определять только в присутствии ионов магния — в сумме с ними.

Метод применим при минимальной суммарной концентрации кальция и магния в титруемой пробе до 0,5 *мг-экв/л*, с ошибкой менее 1%.

Определению жесткости трилонометрическим методом мешают многие ионы ($Fe^{\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, $Mn^{\cdot\cdot}$, CO''_3, HCO'_3 и др.), из которых в природных водах наиболее существенное значение имеют ионы железа. Уже при концентрации железа более 1 *мг/л* определение жесткости становится ненадежным: вблизи эквивалентной точки цвет раствора становится грязновато-серым, переход окраски теряет четкость.

Для устранения влияния железа рекомендуется разбавление испытуемой воды дистиллированной водой или предварительное отделение железа перед определением жесткости (см. ниже).

Влияние марганца при небольших его концентрациях может быть устранено путем добавления к титруемой воде гидроксиламина, который препятствует образованию перекиси марганца.

Если концентрация ионов марганца составляет значительную долю по отношению к жесткости, то марганец необходимо удалять одновременно с железом.

Высокое содержание карбонатных и бикарбонатных ионов мешает определению жесткости, так как при подщелачивании раствора могут образоваться карбонаты кальция и магния, которые очень медленно реагируют с трилоном. Это влияние устраняется путем предварительного добавления титрованного раствора соляной кислоты в количестве, необходимом для нейтрализации щелочности, и кипячения или продувания растворов в течение 5 минут.

Ход определения в отсутствии железа и марганца. В коническую колбу на 250 *мл* отбирается необходимый объем испытуемой воды или стандартного раствора соли магния (при определении нормальности раствора трилона Б).

Суммарное содержание ионов кальция и магния во взятом для анализа объеме не должно превышать 0,5 *мг-экв*. При выборе необходимого количества воды для анализа можно пользоваться таблицей 13.

Обычно берут 25—50 *мл* испытуемой воды и пользуются 0,05 н. раствором трилона Б.

Таблица 13

Рекомендуемый объем пробы для анализа и концентрации раствора трилона Б в зависимости от жесткости воды

Жесткость воды *мг-экв/л*	Объем пробы *мл*	Концентрация трилона Б (нормальн.)
0,5— 5,0	100	0,01
5,0—10,0	50	0,01
10,0—20,0	25	0,05
20,0—50,0	10	0,05

Затем прибавляют, если нужно, дистиллированной воды до объема 100 *мл*, 5 *мл* буферного раствора, 10 капель индикатора кислотного хром-сине-черного и титруют при энергичном помешивании раствором трилона Б до перехода окраски от винно-красной через лиловую и фиолетово-синюю к чисто голубой.

При прибавлении избытка трилона Б окраска больше не меняется, поэтому в качестве эталона может служить заведомо перетитрованная проба.

Вычисление результатов: жесткость воды рассчитывается по формуле:

$$H = N \cdot a \cdot \frac{1000}{V},$$

где N и a — нормальность и количество *мл* раствора трилона Б, израсходованного на титрование;

V — объем, взятый для анализа воды в *мл*.

Удаление ионов железа и марганца при определении жесткости. Для удаления железа и марганца к анализируемой пробе прибавляется NH_4Cl, из расчета 3 *г* на 100 *мл*, раствор нейтрализуется аммиаком по индикатору метиловому красному до оранжевой окраски и прибавляется еще 3—4 капли аммиака. К нагретому до 80° раствору добавляется 0,1 н. раствор $KMnO_4$ до появления сохраняющейся в течение 15 минут розовой окраски.

Затем для уничтожения окраски добавляется 1—2 *мл* этилового спирта, и раствор выдерживается в течение еще 10—15 минут при 80°, пока осадок не скоагулирует. Осадок отфильтровывается и промывается 4—5 раз горячей водой.

При обработке пробы перманганатом калия происходит окисление железа и марганца. Образующаяся при этом перекись марганца способствует полному осаждению железа аммиаком. Большого избытка аммиака следует избегать.

После отделения железа и марганца необходимо перед определением жесткости привести значение pH фильтрата к надлежащей величине.

Добавление обычного количества буферного раствора не позволяет достичь этой цели из-за присутствия большого количества аммонийных солей. Раствор поэтому подщелачивают аммиаком в присутствии индикатора кислотного хром-сине-черного до появления винно-красной окраски, свойственной соединению щелочной формы индикатора с ионами магния, после чего описанным выше способом титруют раствором трилона Б.

Реактивы: все реактивы готовятся на дистиллированной воде, не содержащей меди, которую получают перегонкой в стеклянном аппарате или катионированием.

1. **Растворы трилона Б.** Применяются 0,05 и 0,01 нормальные растворы трилона Б. 0,05 н. раствор готовится растворением 9,30 *г* трилона Б в 1 *л* дистиллированной воды; 0,01 н. раствор готовится разбавлением 0,05 н. раствора.
2. **Растворы солей магния для определения нормальности раствора трилона Б.** 0,01 н. раствор готовится следующим образом. 1,232 *г* $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ растворяют в воде и разбавляют до 1 литра. Продажная соль перекристаллизовывается, сушится в течение суток между листами фильтровальной бумаги и выдерживается в эксикаторе над смесью 5 частей $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ и одной части воды.
3. **Буферный раствор.** 20 *г* NH_4Cl растворяют в 500 *мл* дистиллированной воды, добавляют 100 *мл* 25% аммиака и объем доводят до 1 литра.
4. **Индикатор** — 0,25 кислотного хром-сине-черного растворяют в 10 *мл* буферного раствора и разбавляют этиловым спиртом до 100 *мл*. Раствор индикатора устойчив в течение 1 месяца.
5. Раствор аммиака (разведение 1 : 1).
6. 0,1 н. раствор $KMnO_4$.
7. Этиловый спирт.

Постоянная и временная жесткость

Постоянная жесткость определяется путем титрования предварительно прокипяченной воды.

200 *мл* воды отмеривают в плоскодонную колбу емкостью около 500 *мл* с обратным холодильником и кипятят один час. По окончании

кипячения колбу с водой закрывают пробкой с натронной трубкой и быстро охлаждают струей холодной воды, переливают в мерную колбу на 200 *мл*, смывают стенки плоскодонной колбы и доводят до метки дистиллированной прокипяченной водой. Содержимое колбы перемешивают, фильтруют через сухой фильтр, первые порции фильтрата отбрасывают, потом отмеривают его 100 *мл* и титруют 0,01н. раствором трилона Б. Таким образом находят постоянную жесткость в *мг-экв/л*.

Расчет: см. общая жесткость.

Разница общей и постоянной жесткости дает величину временной жесткости.

Кальций

Определяя общую жесткость воды при помощи трилона Б, находят сумму *мг-экв* кальция и магния. Потом при помощи трилона Б в присутствии индикатора мурексида определяют содержание кальция в *мг-экв/л* и расчетным путем находят содержание Mg.

Трилонометрическое определение ионов кальция, так же как и определение общей жесткости, основано на применении трилона Б, с той только разницей, что индикатором в этом случае служит специфический для кальция мурексид.

Мурексид — аммонийная соль одноосновной пурпуровой кислоты.

В кислой или нейтральной среде мурексид окрашивает раствор в красный цвет, а в щелочной среде (при pH больше 9) анион пурпуровой кислоты придает раствору характерную лиловую окраску. С ионами кальция анион пурпуровой кислоты в щелочной среде образует комплекс, окрашенный в красный цвет:

$$\underset{\text{лиловый}}{\mathrm{Ind}'} + \mathrm{Ca}^{\cdot\cdot} \rightleftarrows \underset{\text{красный}}{\mathrm{Ca\,Ind}^{\cdot}}.$$

Этот комплекс менее стоек, чем комплексное соединение кальция с трилоном, и при титровании последним в эквивалентной точке происходит резкое изменение окраски:

$$\underset{\text{красный}}{\mathrm{Ca\,Ind}^{\cdot}} + \mathrm{H_2T}'' \rightleftarrows \mathrm{CaT_2}'' + \underset{\text{лиловый}}{2\mathrm{H}^{\cdot} + \mathrm{Ind}'},$$

где через H_2T'' обозначен анион трилона Б.

Вредное влияние магния, калия и натрия устраняется разбавлением исследуемой воды дистиллированной водой.

Из других катионов, присутствующих в природных водах обычно в очень небольших концентрациях, могут мешать определению кальция ионы: $Fe^{\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, $Mn^{\cdot\cdot}$, $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ и $Cu^{\cdot\cdot}$.

Это устраняется добавкой осадителей или веществ, образующих с ним комплексы, причем эти добавки вносятся после подщелачивания раствора.

Содержание ионов железа до 10 *мг/л* не мешает определению при условии, если мурексид вводится после раствора едкого натра.

Влияние марганца устраняется тем, что перед внесением индикатора добавляют 0,5 *мл* 5% раствора солянокислого гидроксиламина.

Ионы алюминия оказывают влияние на точность определения тогда, когда их содержание превышает 5 *мг/л*. В этом случае после добавления раствора едкого натра необходимо ввести 0,2 *г* винно-кислого натрия.

Устранить мешающее действие меди при ее концентрации до 5 *мг/л* можно, если вслед за раствором NaOH ввести в титруемый раствор 0,5*мл* 10% раствора Na_2S или диэтилдитиокарбамината натрия.

Из анионов, обычных для природных вод, на ход определения оказывают влияние HCO_3'' и CO_3'', а также редко встречающиеся в больших количествах ионы фосфорной и кремневой кислот.

Вредное влияние этих анионов заключается в том, что при добавлении раствора NaOH ионы кальция связываются соответственно в $CaCO_3$, $Ca_3(PO_4)_2$ и $CaSiO_3$.

Для устранения влияния этих анионов необходимо приступить к титрованию отмеренных проб воды немедленно после прибавления NaOH, так как достаточно пробе, содержащей NaOH, постоять 5—10 минут, чтобы вновь появились перечисленные выше осложнения.

Ход определения. В коническую колбу емкостью 200—250 *мл* отмеривают пипеткой исследуемую воду, объем которой устанавливают, пользуясь таблицей предварительных испытаний. Доводят объем, если это нужно, дистиллированной водой при помощи мензурки до 100 *мл* и, прибавив 2 *мл* 2 н. раствора NaOH и 10—15 *мг* сухой смеси индикатора, титруют раствором трилона при интенсивном перемешивании.

Переход окраски от красного цвета к лиловому свидетельствует о конце титрования. Для лучшего улавливания точки перехода титрование следует проводить, имея в качестве эталона перетитрованную пробу воды.

В некоторых пробах природной воды с высокой концентрацией мешающих анионов наблюдается после добавления к ним раствора NaOH настолько быстрое образование твердой фазы, что даже тогда, когда к титрованию приступают немедленно, переход окраски затягивается.

В этом случае рекомендуется к отмеренной пробе воды прибавить рассчитанное количество титрованного раствора кислоты и продуть воздухом, лишенным CO_2, после чего определять кальций обычным методом.

Для ориентировочной оценки содержания кальция в исследуемой воде, а также для установления наличия усложняющих его определение ингредиентов проводят предварительное испытание, после чего выбирают объем воды и концентрацию титрованного раствора, пользуясь табл. 14.

Таблица 14

Рекомендуемый объем пробы для анализа и концентрации раствора трилона Б в зависимости от концентрации ионов кальция в воде

Концентрация ионов Са *мг-экв/л*	Объем пробы *мл*	Концентрация раствора трилона Б, н.
0,5—2,5	100	0,01
2,5—5,0	50	0,01
5,0—10,0	50	0,05
10,0—20,0	25	0,05
20,0—40,0	25	0,05

Вычисление результатов. Содержание ионов Са в исследуемой воде вычисляется по формуле:

$$x = N \cdot a \cdot \frac{1000}{v},$$

где x — содержание Са в *мг-экв/л*;

N и a — нормальность и количество *мл* раствора трилона Б, израсходованного на титрование;

v — объем взятой для анализа воды в *мл*.

Реактивы: 1. **Растворы трилона Б** — те же, что и для определения жесткости.

2. **Раствор соли кальция** — служит для проверки нормальности раствора трилона Б; 0,01 н. раствор готовят, помещая в мерную колбу на 1 литр 0,5005 *г* высушенного при 110° до постоянного веса х. ч. $CaCO_3$. В колбу вводят 10 *мл* HCl (1 : 10) и после прекращения выделения пузырьков двуокиси углерода раствор доводят дистиллированной водой до метки. Для проверки нормальности трилона берут 20 *мл* приготовленного раствора $CaCl_2$ и, разбавив его до 100 *мл*, ведут определение так, как это описано ниже для воды, не содержащей мешающих примесей.

3. **Индикатор:** растирают в ступке 5 частей мурексида и 95 частей NaCl.

4. 2 н. раствор NaOH.

Магний

Зная общую жесткость, представляющую сумму *мг-экв* кальция и магния, а также содержание кальция в отдельности, выраженное в *мг-экв* на литр, находят содержание магния как разницу указанных величин. Таким образом, содержание магния определяется расчетным путем:

общ. жесткость *мг-экв*—содерж. Са *мг-экв*=содерж. Mg *мг-экв*.

Для выражения результатов в *мг/л* найденное число *мг-экв* умножают на 12,16.

Калий

Метод определения состоит в осаждении калия в виде $K_2Na[Co(NO_2)_6]$ с последующим титрованием перманганатом калия. Для получения правильных результатов требуется строгое соблюдение условий осаждения и обработки осадка. Необходимо также проведение глухого опыта с учетом расходуемых при этом реактивов. При отсутствии платиновой чашки определение возможно проводить также и в фарфоровых чашках.

Определение: отмеривают 250 *мл* воды, подкисляют серной (1 н.) кислотой до кислой реакции по метилоранжу и прибавляют еще один

мл той же кислоты и выпаривают в фарфоровой чашке. Избыток кислоты необходим для переведения нитратов и хлоридов в сульфаты. Воду выпаривают досуха на водяной бане, а после этого чашку ставят на песочную баню для удаления избытка серной кислоты. Наконец, чашку с остатком прокаливают в муфельной печке до сгорания органических веществ и удаления солей аммония. Остаток при этом может остаться серым. Охладив чашку, остаток обрабатывают небольшим количеством горячей воды при помешивании стеклянной палочкой и фильтруют через беззольный фильтр в другую чашку емкостью в 50 *мл*. Промывают несколько раз небольшим количеством воды чашку и фильтр, собирая промывные воды вместе с основным раствором.

Раствор в чашке опять выпаривают досуха и производят осаждение калия. С этой целью прибавляют в чашку 10 *мл* насыщенного раствора хлористого натрия, 10 *мл* 10% хлористого кобальта и 15 *мл* 10% азотистокислого натрия и выпаривают на водяной бане до образования кашицы.

Параллельно ставят глухой опыт, прибавив в чистую фарфоровую чашку те же реактивы и в том же порядке.

Во избежание расползания осадка чашки ставят не глубоко. Под конец упаривания осадок периодически перемешивают стеклянной палочкой, находящейся все время в чашке. Чашки с кашицеобразными осадками охлаждают и прибавляют по 10 *мл* разведенной (1 : 9) уксусной кислоты.

Тщательно перемешивают и дают постоять около 30 минут. Подкисление уксусной кислотой и отстаивание проводится в вытяжном шкафу ввиду выделения вредных для здоровья окислов азота. Затем в каждую чашку прибавляют по 10 *мл* дистиллированной воды, перемешивают и оставляют до следующего дня в вытяжном шкафу.

На следующий день приступают к фильтрованию осадка через маленькие стеклянные тигли № 4 (плотные) с отсасыванием жидкости. Сначала сливают в тигель жидкость, а потом смывают и осадок. Со стенок чашки осадок смывают спиртом (1 : 1), подкисленным уксусной кислотой (50 *мл* спирта и 2 *мл* ледяной уксусной кислоты). На перенесение осадка расходуется около 25 *мл* спирта (1 : 1). Перенеся осадок на фильтр, его дальше промывают 50% спиртом, на что опять расходуется около 25 *мл* спиртового раствора.

Промытый осадок сушат в сушильном шкафу при температуре 80° на протяжении 2 часов. В тщательно промытый химический стакан отмеривают пипеткой 50 *мл* 0,05 н. марганцовокислого калия и, накрыв часовым стеклом, ставят на хорошо нагретую плитку. Когда раствор начинает закипать, к нему прибавляют 5 *мл* серной кислоты (1 : 2) и опять доводят до кипения. Сняв стакан с огня, в раствор марганцовокислого калия опускают тигель с осадком и окисляют ровно 2 минуты, поворачивая тигель палочкой. Спустя 2 минуты прибавляют точно 50 *мл* 0,05 н. раствора щавелевой кислоты, нагревают на плитке до 70—80° при помешивании и снимают с плитки.

То же самое проделывают с контрольной пробой, с той, однако,

разницей, что сверх 50 *мл* прибавляют еще 10 *мл* щавелевой кислоты, чтобы обеспечить обесцвечивание тигля.

Если обесцвечивание задерживается, пробы подогревают.

Спустя 40—50 минут тигли обесцвечиваются. Нагрев раствор до 70—80°, его титруют 0,05 н. марганцовокислым калием до постоянного слаборозового окрашивания.

В одну из оттитрованных проб прибавляют 10 *мл* 0,05 н. щавелевой кислоты и оттитровывают марганцовокислым калием для определения его поправки (К).

Вычисление результатов производится по формуле:

$$X = \frac{[a-(в-c)] \cdot K \cdot 0{,}344 \cdot 1000}{V},$$

где а — количество *мл* 0,05 н. марганцовокислого калия, израсходованного на титрование;

в — то же, израсходованное на титрование контрольной пробы;

с — количество *мл* 0,05 н. раствора марганцовокислого калия, израсходованного на титрование 10 *мл* 0,05 н. раствора щавелевой кислоты;

V — объем исследуемой воды, взятой для анализа;

0,344 — содержание калия, соответствующее 1 *мл* 0,05 н. раствора $KMnO_4$.

Реактивы:

1. 0,05 н. раствор перманганата калия (1,58 *г* в 1 *л*);
2. 0,05 н. раствор щавелевой кислоты (3,1500 *г* в 1 *л*);
3. Насыщенный раствор хлористого натрия;
4. 10% раствор азотистокислого натрия;
5. 10% раствор хлористого кобальта;
6. Спирт разбавленный (1 часть 95% спирта + 1 часть дистиллированной воды);
7. Ледяная уксусная кислота;
8. Серная кислота 1 : 2 (1 объем концентрированной кислоты + 2 объема воды);
9. Серная кислота, нормальный раствор (2,8 *мл* концентрированной серной кислоты доводят до 100 *мл* дистиллированной водой).

Марганец

Метод определения основан на окислении соединений марганца до перманганата, интенсивность окраски которого сравнивается с соответствующими стандартными растворами перманганата калия.

Окисление производится надсернокислым аммонием в кислой среде в присутствии катализатора (сернокислое серебро или сернокислая ртуть). Все соединения, которые могут восстанавливать перманганат калия (хлориды, органические соединения), должны быть предварительно удалены.

Чувствительность метода 0,01 *мг/л*.

Ход определения. 100—200 *мл* воды (в зависимости от содержания марганца) выпаривают досуха в присутствии серной кислоты. При этом удаляются хлориды. При малом содержании хлоридов прибав-

ляют 0,5 *мл* концентрированной серной кислоты, при большом их количестве соответственно 1 *мл* и более. Сухой остаток обрабатывают несколько раз концентрированной азотной кислотой (по 1 *мл*) до полного побеления, растворяют в горячей дистиллированной воде, подкисленной азотной кислотой, и фильтруют через беззольный фильтр в плоскодонную колбу на 100 *мл*. Фильтр промывают несколько раз дистиллированной водой. К фильтрату прибавляют на кончике ножа надсернокислый аммоний и кипятят несколько минут для окисления органических веществ.

Затем приливают 2—3 капли раствора азотнокислого серебра и окисляют соединения марганца надсернокислым аммонием. В присутствии марганца появляется розовое окрашивание, интенсивность которого определяется методом колориметрического титрования.

Для этого испытуемую окрашенную пробу переливают в цилиндр Несслера, в другой цилиндр наливают примерно такой же объем дистиллированной воды и прибавляют из микробюретки 0,001 н. раствор $KMnO_4$ до уравнения окрасок. При большом количестве марганца пользуются 0,01 н. раствором $KMnO_4$.

Содержание марганца в воде рассчитывают по следующей формуле:

$$X = \frac{a \cdot N \cdot 11 \cdot 1000}{V},$$

где X — содержание Mn в воде в *мг/л*;
a — объем перманганата, ушедшего на титрование, в *мл*;
N — нормальность раствора перманганата;
11 — эквивалент марганца;
V — объем воды, взятый для определения.

Реактивы: 1. Концентрированная серная кислота;
2. Концентрированная азотная кислота;
3. Раствор катализатора: 20 *г* азотнокислого серебра растворяют в 1 литре дистиллированной воды;
4. Надсернокислый аммоний х. ч.
5. 0,001 н. раствор перманганата калия.

Сухой остаток

Определяется весовым путем. 250—500 *мм* профильтрованной воды выпаривают на водяной бане в фарфоровой чашке и сушат при температуре 110° до постоянного веса. Чашка предварительно просушивается также до постоянного веса при той же температуре. Если вода прозрачная, ее не фильтруют. Зная вес чашки и той же чашки с остатком, находят величину последнего.

Величину прокаленного остатка находят путем взвешивания чашки с осадком после прокаливания в муфеле при высокой температуре. При этом происходит сгорание органических веществ и разложение гидрокарбонатов:

$$Ca(HCO_3)_2 \rightarrow CaCO_3 + H_2O + CO_2$$

При очень высокой температуре (800°) начинается разложение сульфатов, поэтому прокаливание остатка нужно проводить при тем-

пературе 800°, т. е. не доводя муфель до светлокрасного каления.

Для устранения ошибки, возникающей вследствие разложения карбонатов, чашку с прокаленным остатком охлаждают, смачивают раствором углекислого аммония и опять прокаливают при невысокой температуре (до 400°). Доведя вес чашки с остатком до постоянного значения, вычисляют вес прокаленного остатка.

Проверка результатов анализа солевого состава воды

Определение солевого состава воды обычно сводится к определению катионов: $Ca^{\cdot\cdot}$ и $Mg^{\cdot\cdot}$ и анионов: HCO'_3, Cl' и SO''_4. Щелочные металлы определяют расчетным путем как разницу между суммой эквивалентов всех анионов (HCO'_3, Cl' и SO''_4) и катионов $Ca^{\cdot\cdot}$ и $Mg^{\cdot\cdot}$:

$$\sum_{ан.} - \sum_{Ca^{\cdot\cdot} \text{ и } Mg^{\cdot\cdot}} = \sum_{K^{\cdot} \text{ и } Na^{\cdot}}$$

Для выражения результатов в *мг* умножают условный эквивалентный вес щелочных металлов на 25.

Имея содержание калия, вычисляют действительное содержание натрия.

Вообще говоря, в указанном выше выражении разница ($\Sigma_{K^{\cdot} \text{ и } Na^{\cdot}}$) всегда должна быть положительной, так как в любой природной воде содержатся щелочные металлы. Обратное скорее указывает на ошибки или неточность анализа, хотя некоторые авторы допускают и отрицательное зачение $\Sigma_{K^{\cdot} \text{ и } Na^{\cdot}}$ до 1 *мг-экв*. Последнее, по-видимому, может быть объяснено наличием в воде неучтенных кислот, например, гуминовых, кремневой, азотной, фосфорной и др., поэтому в сумму *мг-экв* нужно вводить вес всех компонентов, имеющих практическое значение в этой сумме.

Результаты анализа могут также контролироваться по величине сухого остатка, получаемой практически. Ясно, что сумма *мг* катионов и анионов не может превышать этой величины:

$$\Sigma \text{ кат. и анион} < \text{величины сухого остатка},$$

так как в вес сухого остатка, кроме минеральных веществ, входят и органические вещества, неучитываемые полумикроэлементы и т. п. Вследствие разложения органических веществ и гидрокарбонатов при нагревании величина сухого остатка вообще является весьма неустойчивой.

Наиболее сходящиеся результаты получаются, если расчет вести на сухой прокаленный остаток, принимая в расчет не HCO^1_3, а CO''_3 (половину щелочности), ввиду разложения HCO^1_3 по схеме:

$$2\,HCO'_3 \rightarrow CO''_3 + H_2O + CO_2.$$

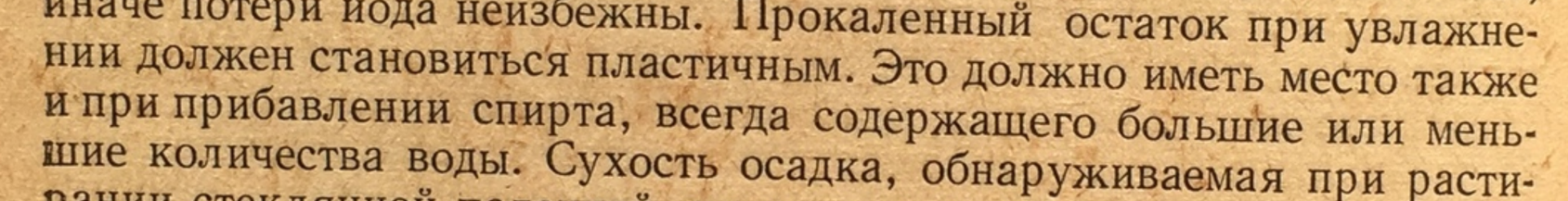
Для устранения ошибки, вызываемой разложением карбонатов при высокой температуре ($CaCO_3 \rightarrow CaO + CO_2$), прокаленный остаток можно смочить раствором углекислого аммония и дополнительно прокалить при невысокой температуре (до 400°).

Найденную аналитическим путем сумму катионов и анионов ($\Sigma_{кат. \text{ и } ан.}$) называют минерализацией воды.

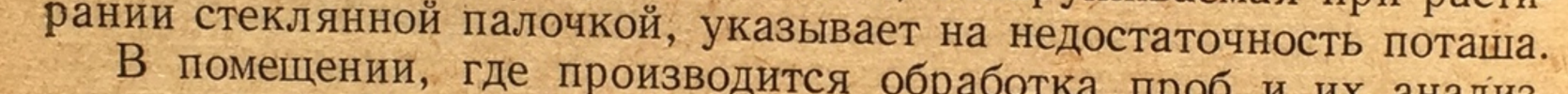
IV. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Йод

Принципиальная схема определения. Выпаривают в присутствии поташа исследуемую воду, остаток сушат и прокаливают, потом извлекают из него йод спиртом. Полученный экстракт опять выпаривают, потом прокаливают, а остаток (KJ) растворяют в воде и, подкислив серной кислотой, окисляют бромной водой до йодата (KJO_3), который определяется йодометрически:



$$KJO_3 + 5KJ + 3H_2SO_4 = 3J_2 + 3K_2SO_4 + 3H_2O;$$



$$J_2 + 2Na_2S_2O_3 = Na_2S_4O_6 + 2NaJ.$$

Титруют 0,001 н. раствором гипосульфита из микробюретки или микропипетки с точностью делений в 0,010 *мл*.

Во избежание крупных ошибок нужно следить за тем, чтобы прокаленный остаток содержал достаточное количество поташа, иначе потери йода неизбежны. Прокаленный остаток при увлажнении должен становиться пластичным. Это должно иметь место также и при прибавлении спирта, всегда содержащего большие или меньшие количества воды. Сухость осадка, обнаруживаемая при растирании стеклянной палочкой, указывает на недостаточность поташа.

В помещении, где производится обработка проб и их анализ, не должно быть препаратов, выделяющих йод. Все применяемые реактивы и дистиллированная вода должны быть очищены от йода.

Ход определения. Для определения применяют 3 литра исследуемой воды. Выпаривание таких объемистых проб производится в больших эмалированных кастрюлях (на 5—8 *л*).

К испытуемой воде прибавляют 10 капель однопроцентного раствора фенолфталеина, потом раствор поташа до яркокрасного окрашивания, не исчезающего при помешивании, и выпаривают на газовой или обыкновенной кухонной плите до объема 300—400 *мл*.

Если выпарка производится на месте взятия пробы и требуется дальнейшая транспортировка ее в лабораторию для анализа, остаток (около 0,5 *л*) переносят в бутылку и закупоривают плотно резиновой пробкой. Кастрюлю при этом ополаскивают небольшим количеством той же воды, оставленной для этой цели из отмеренного ее количества.

Окончательная выпарка пробы производится на водяной бане в фарфоровой чашке (№ 3). Выпаренный осадок в чашке просушивают в сушильном шкафу и прокаливают в муфельной печи при температуре до 450°; во избежание потери йода нужно следить, чтобы температура муфельной печи была не выше 500°С. Прокаливание продолжают до полного обугливания органического вещества, не добиваясь его окончательного сгорания (остаток может быть серым). Прокаленный остаток увлажняют безйодной водой и растирают стеклянной палочкой до однородной массы. Если остаток жесткий,

прибавляют по каплям поташа и растирают до получения мягкой массы.

Потом прибавляют 8—10 *мл* безйодного спирта, тщательно размешивают и декантируют экстракт в другую чашку меньшего размера (№ 2).

Если остаток мучнистый и не отстаивается, прибавляют концентрированный раствор поташа при помешивании стеклянной палочкой до тех пор, пока осадок полностью не свернется.

Экстрагирование повторяют с новой порцией спирта.

После этого к остатку прибавляют 2—3 капли концентрированного раствора поташа, высушивают на водяной бане, потом в сушильном шкафу и опять прокаливают в муфельной печи, увлажняют водой и снова экстрагируют двумя порциями спирта. Спиртовые экстракты сливают к предыдущим.

Таким образом, экстрагирование йода из сухого остатка производится в два приема после прокаливания с предварительным прибавлением поташа. Так как при этом каждое экстрагирование производится двумя порциями спирта, по 8—10 *мл* каждая, в сумме это составляет объем экстракта $(8—10) \times 4 \approx 40$ *мл*.

Полученный экстракт выпаривают на водяной бане, прибавив две капли концентрированного раствора поташа. После этого чашку просушивают в сушильном шкафу и прокаливают в муфеле.

Так как в экстракте минеральных веществ мало, в этих условиях происходит быстрое и полное сгорание всего органического вещества.

После охлаждения чашки содержимое ее увлажняют дистиллированной водой и опять экстрагируют небольшими порциями спирта.

Экстракт осторожно выпаривают на водяной, не сильно нагретой бане с таким расчетом, чтобы спирт в чашке не закипел, так как это приводит к образованию смолистых веществ, что приводит к преувеличенным результатам. По этой же причине перед прокаливанием осадки непременно предварительно сушат в сушильном шкафу.

Примечание. Сухой остаток в чашке должен быть бесцветным, в противном случае его смачивают несколькими каплями воды, прибавляют 1—2 капли раствора поташа, сушат и прокаливают снова, но уже не подвергая экстрагированию спиртом.

Бесцветный остаток растворяют в 1—1,5 миллилитрах дистиллированной воды и фильтруют через маленькую воронку (диаметром около 3 *см*) в коническую колбочку емкостью около 25 *мл*. Объем фильтрата вместе с промывными водами должен составлять около 4 *мл*.

Фильтрат подкисляют разбавленной 5% серной кислотой, пробуя реакцию раствора при помощи платиновой иглы (проволока, впаянная в стеклянную трубку) на бумажку, пропитанную метилоранжем. К подкисленному таким образом раствору прибавляют

бромную воду до пожелтения раствора и ставят на заранее сильно нагретую песочную баню. Для равномерного кипения к раствору прибавляют на кончике ножа щепотку талька. После того как раствор закипит, продолжают кипячение ровно пять минут. Охладив колбочку с раствором под краном с холодной водой, прибавляют несколько крупинок йодистого калия, 2 капли 1% раствора крахмала и спустя 5 минут титруют 0,001 н. раствором гипосульфита.

Результаты вычисляются по формуле:

$$P = V \cdot T \cdot q \ 1/6 \ \gamma/л,$$

где

P — количество йода в гаммах на литр;
V — объем точно 0,001 н. раствора гипосульфита;
T — титр 0,001 н. раствора йода, выраженный в гаммах = 127;
q — коэффициент для приведения содержания йода в 1 литре.

Пользуясь точно 0,001 н. раствором гипосульфита и применяя один литр испытуемой воды, имеем:

$$P = V \cdot 21{,}15 \ \gamma/л \text{ йода}$$

в случае трех литров:

$$P = V \cdot 7{,}05 \ \gamma/л.$$

Реактивы: 1. Свободная от йода дистиллированная вода.
2. Спирт, свободный от йода.
3. Йодистый калий.
4. Поташ, свободный от йода.
5. Фенолфталеин, 1% спиртовый раствор.
6. Серная кислота, 5% раствор.
7. Крахмал, 1% раствор.
8. Гипосульфит, 0,001 н. раствор; готовится ежедневно из 0,1 н. раствора. К дистиллированной воде при этом добавляют щепотку соды (Na_2CO_3).
9. Метилоранжевая бумага, фильтр. Бумага, пропитанная раствором метилоранжа и просушенная.
10. Бромная вода, пригодна на протяжении нескольких дней.

Очистка реактивов. Все реактивы, а также дистиллированная вода должны быть очищены от йода.

1. Дистиллированная вода перегоняется в присутствии поташа.
2. Спирт-ректификат перегоняется в присутствии поташа.
3. Йодистый калий. Можно пользоваться продажным доброкачественным препаратом (проверить на йод: KJ+5% H_2SO_4 2—3 капли + крахмал). Пожелтевший препарат выдерживается на воздухе до побеления.
4. Тальк обрабатывается концентрированной соляной кислотой, промывается, высушивается и прокаливается.
5. Поташ. Готовят водный раствор поташа из расчета 1 *кг* поташа на 810 *мл* воды. Потом встряхивают продолжительное время этот раствор в делительной воронке со спиртом и разделяют. Обработку раствора спиртом повторяют несколько раз. Отделенный от спирта раствор поташа пригоден к употреблению.

Фтор

Определение фтора основывается на его способности разрушать циркон-ализариновый лак красного цвета, вследствие чего в присутствии фтора наблюдается изменение цвета раствора от розового к желтому, так как сам ализарин желтого цвета.

Влияние ионов сульфата и хлорида устраняется или путем отгона фтора или путем введения в испытуемые и стандартные растворы определенного большого количества сульфатов и хлоридов, во много раз перекрывающего содержание их в испытуемых пробах. Ниже описывается упрощенный метод определения без отгона фтора.[1] Он пригоден в подавляющем большинстве случаев природных вод, за исключением крайне минерализованных, содержащих большое количество сульфатов и сильно цветных речных вод, требующих отгона фтора.

Определение. В ряд колбочек (плоскодонных или конических) наливают серию стандартных растворов, беря 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10,12 *мл* рабочего раствора, содержащего 0,01 *мл* фтора в 1 *мл*, и доводят дистиллированной водой до 100 *мл*. Одновременно отмеривают в другой ряд таких же колбочек по 100 *мл* испытуемых растворов. Затем к стандартным и испытуемым растворам прибавляют по 5 *мл* циркон-ализаринового раствора, перемешивают и оставляют на час. После этого колориметрируют в цилиндрах Несслера, просматривая растворы в проходящем свете на белом фоне при одинаковой высоте столбов жидкости.

Если концентрация фтора в пробах настолько большая, что выходит за пределы указанной шкалы, определение повторяют с самого начала с пробами, разбавленными соответственно дистиллированной водой.

Реактивы:

1. 0,3 *г* оксихлорида циркония растворяют в 50 *мл* воды в литровой колбе. 0,07 *г* сульфоализарата натрия растворяют в 50 *мл* воды. Осторожно прибавляют при помешивании второй раствор к первому. Через 5 минут смесь осветляется.

Смесь кислот: растворяют 112 *мл* концентрированной соляной кислоты в 500 *мл* воды. Отдельно прибавляют 37 *мл* концентрированной серной кислоты к 400 *мл* воды и доводят до 500 *мл*. После охлаждения оба раствора смешивают.

К прозрачному ализарин-циркониевому раствору прибавляют смесь кислот до метки и перемешивают. Цвет смеси меняется к желтому. Через час смесь готова к употреблению.

Взявши 5 *мл* этой смеси на 100 *мл* пробы и стандартных растворов, мы создаем концентрацию (SO''_4) — 3,33 *г/л* и Cl' — 6,48 *г/л*, что во много раз перекрывает их содержание в природных водах.

2. Стандарт — 0,2210 *г* фтористого натрия растворяют в 1 *л* дистиллированной воды. Разбавляют этот раствор в 10 раз (10 : 100), получают рабочий стандартный раствор, содержащий 0,01 *мг* фтора в 1 *мл*.

---

[1] Методика определения фтора с отгоном и без отгона описана более детально в кн. Р. Д. Габович «Фтор и его гигиеническое значение», М., 1957.

Медь

Дифенилтиокарбазон или дитизон:

$$S = C \begin{cases} NH - NH - C_6H_5 \\ N = N - C_6H_5. \end{cases}$$

является наиболее чувствительным реактивом на медь, которая образует с ним внутрикомплексное соединение фиолетово-красного цвета. Оно извлекается в солянокислом (0,1 н.) растворе четыреххлористым углеродом или хлороформом. Ряд тяжелых металлов, как серебро, золото, ртуть и висмут, дают аналогичную реакцию и мешают определению меди. Трехвалентное железо окисляет дитизон, поэтому оно не должно присутствовать в значительной концентрации. В присутствии фосфатов влияние железа уменьшается.

Принимая во внимание относительно низкое загрязнение природных вод тяжелыми металлами, можно принять упрощенную схему определения в них меди без предварительного ее выделения.

Приготовление калибровочной кривой. Готовят серию стандартных растворов из 0,001% раствора меди, беря его 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,7; 1,0 мл. Отмеренный раствор переносится в делительную воронку, куда прибавляют 10 *мл* 0,1 н. раствора соляной кислоты, содержащего фосфаты, 5 мл 0,001% раствора дитизона и энергично встряхивают на протяжении 2 минут. Раствору дают отстояться и сливают в сухие пробирки с пробкой или непосредственно в кювету размером 10 *мм*. Колориметрируют против растворителя (дитизона) с зеленым светофильтром.

При отсутствии фотоколориметра определение производится визуально.

Определение. 200—500 *мл* испытуемой воды подкисляют соляной кислотой и выпаривают в чашке досуха на водяной бане. К остатку прибавляют 10 *мл* 0,1 соляной кислоты, содержащей фосфаты, и раствор переносят в делительную воронку, затем прибавляют 5 *мл* 0,001% раствора дитизона в четыреххлористом углероде и энергично взбалтывают в течение 2 минут. Раствору дают отстояться и сливают в сухую пробирку с пробкой или в кювету, а затем колориметрируют.

Реактивы: 1. Дитизон, 0,01% раствор в четыреххлористом углероде. Путем разбавления его получают рабочий 0,001% раствор в четыреххлористом углероде.

2. Стандартный раствор меди (0,01%). 0,1964 *г* $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в виде прозрачных невыветрившихся кристаллов растворяют в дистиллированной воде, затем прибавляют рассчитанное количество концентрированной соляной кислоты (4,1 *мл* уд. в. 1,19), чтобы получить 0,1 н. раствор HCl, и доводят до 500 *мл*. Из этого раствора готовят более разбавленный (0,001%) рабочий раствор меди путем разведения в 0,1 н. соляной кислоте. Все растворы готовятся на катионированной (дистиллированной) воде.

3. Соляная кислота (0,1 н.), содержащая фосфаты. 8,2 *мл* концентрированной HCl (уд. в. 1,19) растворяют в катионированной воде, прибавляют 3,5 *мл* фосфорной кислоты или 5 *г* KH_2PO_4 и после растворения доводят до 1 *л*.

Для удаления тяжелых металлов раствор обрабатывается дитизоном, сначала более концентрированным, а потом разбавленным до прекращения изменения цвета.

Цинк

Наиболее чувствительным реактивом на цинк служит дитизон, позволяющий определять до 0,5γ Zn. Правда, крайне высокая чувствительность реактива является в некотором отношении и его недостатком, так как при этих условиях бывает трудно достичь стабильных результатов. Требуется очень тщательная очистка реактивов и посуды.

Влияние посторонних металлов (меди и др.) на определение устраняется путем прибавления гипосульфита, образующего с ними комплексы. Оптимальные условия среды (pH-5,5) обеспечиваются прибавлением буферной уксуснокислой смеси.

Описанный ниже метод определения рассчитан на артезианские воды, содержащие относительно небольшие количества цинка. В этом случае мы рекомендуем брать на одно определение в среднем 10 *мл* испытуемой воды. Вообще для выбора объема воды для анализа необходимо произвести приближенное определение цинка непосредственно из пробы, без предварительного ее выпаривания в чашке. При высоком содержании цинка, как это бывает в случае водопроводной воды, проходящей по оцинкованным трубам, иногда приходится брать 1 *мл* исследуемой воды.

Приготовление калибровочной кривой. 0,5; 0,7; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 *мл* стандартного раствора (0,0001% Zn) отмеривают в делительную воронку объемом на 100—200 *мл*, прибавляют 10 *мл* 0,01 н. раствора соляной кислоты, 5 *мл* уксуснокислой буферной смеси и 1 *мл* концентрированного раствора гипосульфита. Потом прибавляют 5 *мл* раствора дитизона (0,001%) и энергично встряхивают на протяжении 2 минут. Дают раствору отстояться, просушивают кончик воронки при помощи фильтровальной бумаги, свернутой в трубку, и сливают в сухую пробирку с пробкой, где раствор окончательно освобождается от мелких капель водного раствора, осаждающихся на стенках пробирки.

Последнее ускоряется путем ее легкого встряхивания. Раствор колориметрируют против растворителя (дитизона) с зеленым светофильтром в кюветах размером 10 *мм*.

Пример:

Взято стандартного раствора		Показания прибора: оптическая плотность
мл	гамм Zn	
глухой опыт		0,103
0,5	0,5	0,142
0,7	0,7	0,161
1,0	1,0	0,203
1,5	1,5	0,23
2,0	2,0	0,257
2,5	2,5	0,277
3,0	3,0	0,295

Ход анализа. Отмеривают пипеткой 10 *мл* испытуемой воды и переносят ее в делительную воронку. Затем прибавляют около 2 *мл* 0,1 н. соляной кислоты, с учетом щелочности воды, 5 *мл* уксуснокислой буферной смеси, 1 *мл* раствора гипосульфита и 5 *мл* дитизона (0,001%). Встряхивают 2 минуты, разделяют и колориметрируют. Пользуясь фотоколориметром, следят за тем, чтобы на стенках кюветы не было капель воды.

В случае получения красного окрашивания прибавляют дополнительное количество раствора дитизона в четыреххлористом

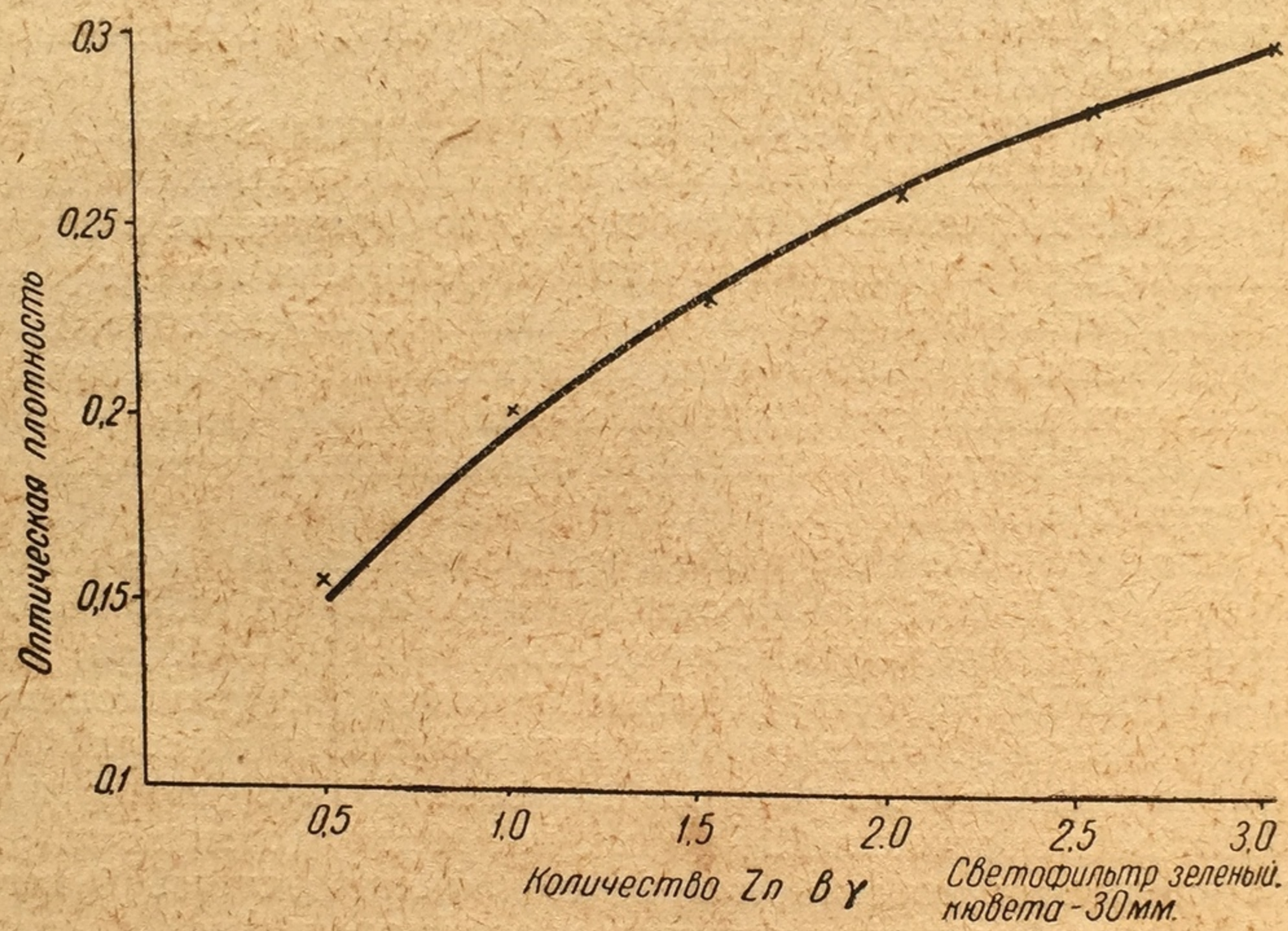


Рис. 11. Калибровочная кривая на цинк.

углероде, чтобы получить смешанную окраску. Разведение, конечно, учитывается при расчете результатов.

Произведя это предварительное определение, решают, какой объем воды необходимо брать, чтобы окрашивание раствора было в пределах шкалы и наиболее благоприятное для колориметрирования. После этого окончательное определение производится с выпаркой отмеренного объема исследуемой воды.

Отмеренное количество исследуемой воды подкисляют 3 *мл* 0,1 н. соляной кислоты и выпаривают в чашке досуха. К остатку после охлаждения приливают 10 *мл* 0,01 н. соляной кислоты и раствор переносят в делительную воронку. Потом прибавляют к нему 5 *мл* уксуснокислой буферной смеси, 1 *мл* раствора гипосульфита и 5 *мл* 0,001% раствора дитизона в четыреххлористом углероде. Смесь энергично взбалтывают на протяжении 2 минут, раствору дают отстояться и сливают в пробирку, предварительно просушив кончик воронки фильтровальной бумагой. Колориметрируют против реактива с зеленым светофильтром в кюветах 10 *мм*.

Реактивы: 1. Дитизон. Готовится в качестве основного 0,01% раствор дитизона в четыреххлористом углероде. Путем разведения его в том же растворителе получают 0,001% рабочий раствор. Растворы хранятся в склянках из темного стекла с хорошо притертыми пробками в темном месте, под слоем 1%-ной серной кислоты.

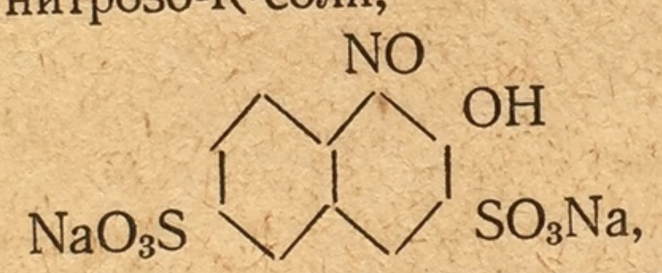
2. **Уксуснокислая буферная смесь.** Смешивают равные объемы 2 н. раствора уксуснокислого натрия и 2 н. уксусной кислоты. Для удаления примеси тяжелых металлов смесь взбалтывают несколько раз с более концентрированным (0,01%) раствором дитизона и с разбавленным (0,002%) до полного прекращения изменения цвета.

3. **Гипосульфит.** 25 *г* гипосульфита растворяют в 100 *мл* воды: навеску гипосульфита, взятую на технических весах, переносят через воронку с широким отверстием в склянку с притертой пробкой, прибавляют 100 *мл* дистиллированной предварительно прокипяченной и охлажденной воды и оставляют до полного растворения соли. Если препарат крупно кристаллический, перед отвешиванием его растирают в ступке пестиком.

4. **Стандартный раствор цинка.** Готовят 0,01% раствор цинка в приблизительно 0,1 н. соляной кислоте. Гранулированный химически чистый цинк взвешивают в количестве 0,05 *г* на аналитических весах и переносят через воронку в мерную колбу на 500 *мл*. Воронку смывают небольшим количеством дистиллированной воды и прибавляют около 5 *мл* концентрированной соляной кислоты (уд. веса 1,19). После растворения цинка раствор доводят до метки. Полученный 0,01% раствор разбавляют 0,01 н. соляной кислотой в 100 раз и получают 0,0001% рабочий раствор цинка в 0,01 н. соляной кислоте, содержащий 1 гамму цинка в 1 *мл*.

Кобальт

Водный раствор нитрозо-R-соли,



имеющий желтый цвет, в присутствии кобальта переходит в красный вследствие образования комплекса. Значительные концентрации железа и меди мешают определению кобальта. Однако 100 γ меди и 1000 γ железа не мешают определению 1 γ кобальта. Цианиды, перекиси и восстановители должны отсутствовать.

Сначала готовят серию стандартных растворов. Для электрофотоколориметрии готовят калибровочную кривую, для чего рекомендуется пользоваться 0,001 % стандартным раствором, беря его: 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 *мл*.

Пример:

Взято стандарта		Показания прибора: оптическая плотность
мл	гамм Co	
0,1	1	0,000
0,3	3	0,036
0,5	5	0,050
0,7	7	0,065
1,0	10	0,090
1,5	15	0,141

Ход определения. Отмеривают 200—500 *мл*, а иногда и 1000 *мл* испытуемой воды, выпаривают на водяной бане досуха, потом прибавляют несколько *мл* концентрированной азотной кислоты и опять выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 10 *мл* смеси азотной и соляной кислот, приготовленных согласно указанной ниже прописи, и нагревают для растворения остатка.

Потом раствор переносят через фильтр в небольшие плоскодонные колбочки емкостью 100—150 *мл*, прибавляют 5 *мл* 0,1% раство-

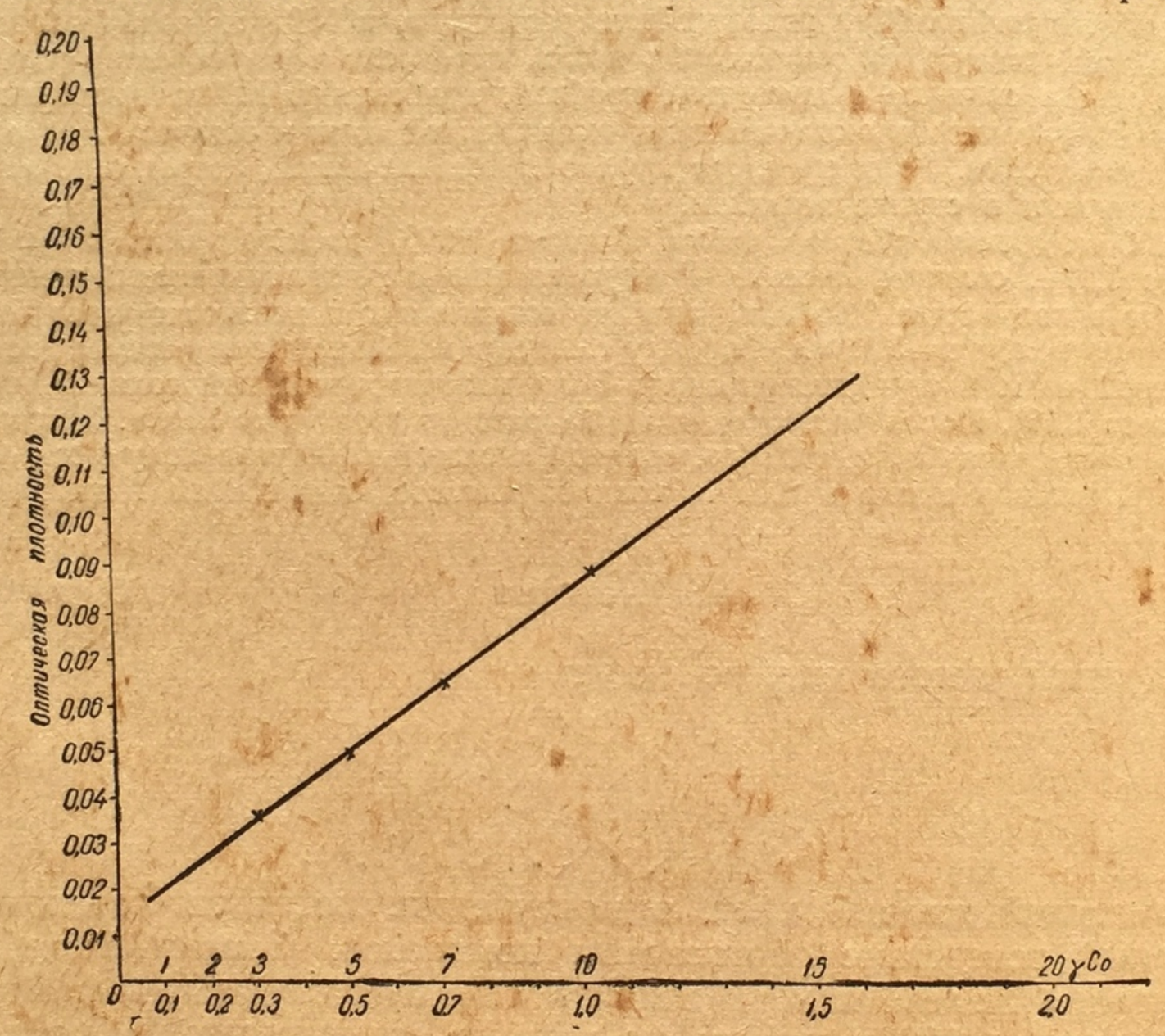


Рис. 12. Калибровочная кривая на кобальт.
Светофильтр зеленый, кювета 30 мм.

ра нитрозо-R-соли, 5 *мл* 50% раствора уксуснокислого натрия и ставят на нагретую электроплитку (кипятят) на 1—2 минуты. Сняв колбочку с огня, прибавляют 1,5 *мл* раствора концентрированной соляной кислоты и опять кипятят (нагревают) 1 минуту. Охлажденный раствор переливают в мерную колбочку на 50 *мл*, доводят до метки дистиллированной водой и колориметрируют.

Реактивы: 1. Нитрозо-R-соль: 0,1% водный раствор.

2. Стандартный раствор кобальта, основой — 0,01% раствор: 0,0404 *г* $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ растворяют в дистиллированной и дополнительно катионированной воде, добавляют 1 *мл* концентрированной соляной кислоты и доводят водой до 100 *мл*. Из этого раствора готовят более разбавленный рабочий раствор, например 0,001% (1 *мл* = 10 γ Co).

3. Смесь азотной и соляной кислот: 25 *мл* концентрированной азотной кислоты растворяют в 300—400 *мл* катионированной воды и

25 *мл* концентрированной соляной кислоты растворяют приблизительно в таком же объеме воды. Потом оба раствора смешивают и доводят до 1 *л*.

4. Уксуснокислый натрий, 50% раствор.
5. Концентрированная соляная кислота (уд. вес 1,19).

Молибден

Молибден определяется в виде роданидного комплекса, имеющего в разбавленном растворе золотистый цвет. Для концентрирования молибдена из природных вод можно воспользоваться адсорбцией его из кислого раствора на активированном угле.

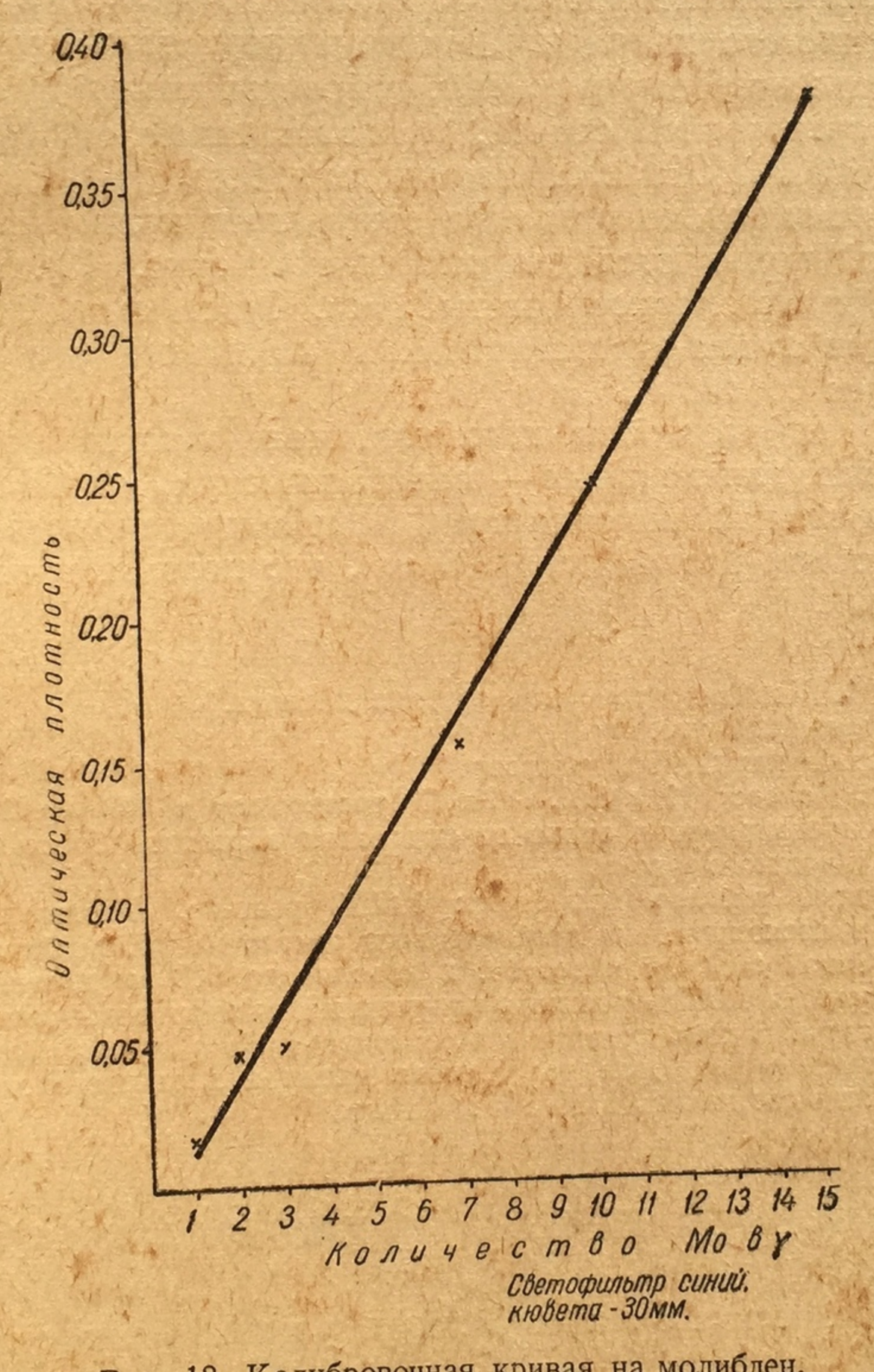


Рис. 13. Калибровочная кривая на молибден.

Ход анализа. 0,5—1 *л* воды, в зависимости от ожидаемого количества молибдена, подкисляют концентрированной азотной кислотой (1 *мл* на 0,5 *л*), прибавляют 0,75 *г* активированного угля и перемешивают. Перемешивание повторяют несколько раз на

протяжении приблизительно одного часа и дают отстояться до полного просветления раствора. Прозрачную часть его сливают, а остаток (около 25 *мл*) переносят вместе с углем в маленькую склянку (на 50 *мл*). В таком виде проба может транспортироваться и вообще сохраняться до начала анализа.

После полного отстаивания угля избыток раствора сливают с таким расчетом, чтобы остаток его составил 20—25 *мл*.

К оставшейся части раствора с углем прибавляют 5 *мл* 1 н. раствора едкого натра, встряхивают, дают отстояться, фильтруют в колбочку на 50 *мл* и промывают. К прозрачному фильтрату прибавляют 5 *мл* концентрированной соляной кислоты, 5 *мл* 5% раствора роданистого калия и 2 *мл* двухлористого олова. Объемы растворов всех проб выравнивают, доводя до метки (50 *мл*), и сравнивают со стандартной серией, приготовленной одновременно из стандартного (0,001%) раствора молибдена, беря его 0,1; 0,2 *мл* и т. д.

При наличии фотоколориметра составляют калибровочную кривую, которой пользуются для определения (рис. 13). Применяют синий светофильтр, размер кюветы 30 *мм*. Чувствительность реакции увеличивается путем экстрагирования комплекса эфиром в два приема общим объемом 15 *мл*.

Для водных растворов калибровочная кривая представляет прямую линию, для эфирных — параболическую, слабо изогнутую.

Для визуальной колориметрии рекомендуется применять минимальный объем растворителя (5 *мл*), что повышает чувствительность реакции.

Реактивы: 1. Концентрированная азотная кислота.

2. Активированный уголь.

3. Роданистый калий, 5% раствор.

4. Хлористое олово: 10 *г* $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ растворяют в 100 *мл* 2 н. соляной кислоты. Для предохранения олова от окисления в раствор бросают несколько кусочков металлического олова.

5. Стандартный раствор молибдена: 0,01% раствор. Растворяют 0,075 *г* чистого MoO_3 в нескольких *мл* разбавленного едкого натра, разбавляют водой, слабо подкисленной соляной кислотой, и доводят до 500 *мл* дистиллированной водой. Для получения 0,001% раствора полученный раствор разбавляют в 10 раз.

Этиловый эфир. В день применения реактивный эфир встряхивают со смесью из равных количеств растворов роданистого калия и хлористого олова. Объем этой смеси должен составлять 1/10 объема эфира.

V. КОНТРОЛЬ ЗА КАЧЕСТВОМ ХЛОРИРОВАНИЯ ВОДЫ

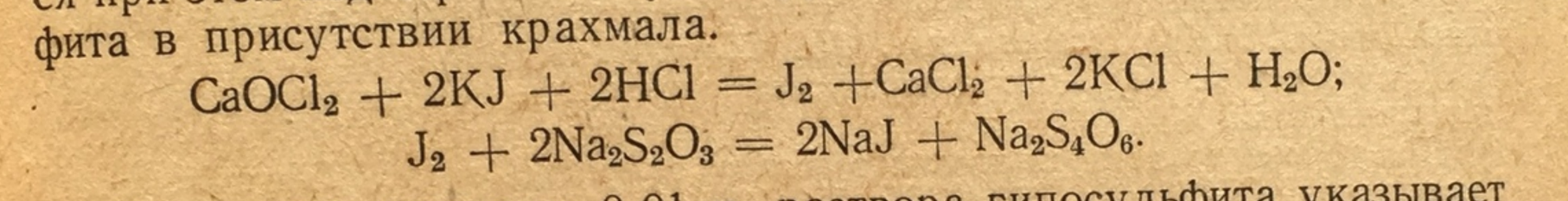
Определение активного хлора в хлорной извести

Хлорная известь, получаемая путем насыщения извести хлором, при изготовлении содержит до 36% хлора в активной форме, то есть обладающего окислительными свойствами.

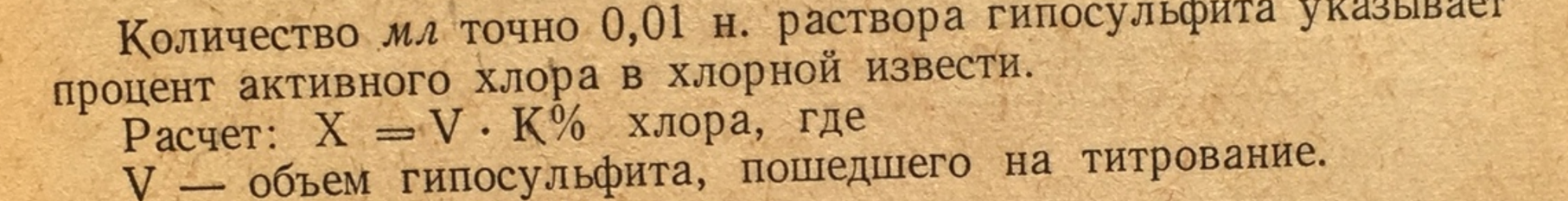
Так как хлорная известь разлагается под влиянием воды, воздуха и света, то определение активного хлора в ней приходится

производить довольно часто. Определение производится йодометрическим методом.

3,55 *г* хлорной извести, отвешенной в бюксе на технических весах, растирают в фарфоровой чашке с небольшим количеством воды до однородной кашицы, разбавляют водой и смывают через воронку с коротким и широким концом в литровую колбу. Раствор доводят до метки и хорошо перемешивают. Затем вносят в коническую колбу 0,5 *г* йодистого калия, 10 *мл* соляной кислоты (1 : 1) или 5 *мл* серной кислоты (1 : 3) и, наконец, 10 *мл* предварительно взболтанного раствора (суспензии) хлорной извести. Выделившийся при этом йод через 5 минут титруют 0,01 н. раствором гипосульфита в присутствии крахмала.



$$CaOCl_2 + 2KJ + 2HCl = J_2 + CaCl_2 + 2KCl + H_2O;$$



$$J_2 + 2Na_2S_2O_3 = 2NaJ + Na_2S_4O_6.$$

Количество *мл* точно 0,01 н. раствора гипосульфита указывает процент активного хлора в хлорной извести.

Расчет: $X = V \cdot K\%$ хлора, где

V — объем гипосульфита, пошедшего на титрование.

Определение остаточного хлора в воде

Определение производится йодометрическим методом на месте отбора пробы воды.

Определение. Вносят в коническую колбу щепотку бесцветного йодистого калия (около 0,2 *г*), растворяют его в 2—3 *мл* дистиллированной воды и приливают 10 *мл* буферного раствора. К этой смеси прибавляют 100 *мл* исследуемой воды и перемешивают встряхиванием. Накрывают часовым стеклом и ставят на 5 минут (не на свету). Потом прибавляют 2—3 *мл* раствора крахмала и титруют 0,01 н. раствором гипосульфита до обесцвечивания. 1 *мл* 0,01 н. раствора соответствует 0,355 *мг* хлора. Содержание остаточного хлора (X) вычисляется по формуле:

$$X = V \cdot K \cdot 0{,}355 \cdot 10 \ мг/л,$$

где

V — объем раствора гипосульфита, пошедшего на титрование.

Реактивы: 1. Йодистый калий х. ч., не содержащий свободного йода.

2. Буферная смесь. Смешивают 102 *мл* нормального раствора уксусной кислоты и 98 *мл* нормального раствора уксуснокислого натрия и доводят до 1 *л* дистиллированной водой, предварительно прокипяченной. pH смеси = 4,6. На 1 *л* н. растворов берут уксуснокислого натрия 136,06 *г* и уксусной кислоты 60,03 *г* или 57,24 *мл*.

3. 0,01 н. раствор гипосульфита.

4. 1% раствор крахмала.

ЛИТЕРАТУРА

Алекин О. А. Общая гидрохимия, Гидрометиздат, 1948.

Алекин О. А. Химический анализ вод суши, Гидрометиздат, 1954.

Голубева М. Т. и Штуковская Л. А. Пособие по методам

санитарно-химических исследований воды. Московский институт санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана, Москва, 1959.

Драчев С. М., Разумов А. С., Бруевич С. В., Скопинцев Б. А., Голубева М. Т. Методы химического и бактериологического анализа воды, Медгиз, 1953.

Драчев С. М., Разумов А. С., Скопинцев Б. А. и Кабанов Н. М. Приемы санитарного изучения водоемов, Медгиз, Москва, 1960.

Кольтгоф И. М. и Лайтинен Г. А. Определение концентрации водородных ионов, Москва, 1947.

Лаптев Ф. Ф. Анализ воды, Госгеолиздат, 1955.

Лурье Ю. Ю. Расчетные и справочные таблицы для химиков, Госхимиздат, 1947.

Методы определения микроэлементов. Институт геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского, изд. АН СССР, М.-Л., 1950.

Сендел Е. Б. Колориметрическое определение следов металлов, Госхимиздат, 1949.

Современные методы химического анализа природной воды, Гидрохимический институт АН СССР, изд. АН СССР, М., 1955.

Соколов И. Ю. Таблицы и монограммы для расчета гидрохимических анализов, Госгеолиздат, Москва, 1958.

ЧАСТЬ ВТОРАЯ

МЕТОДЫ ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Анализ промышленных сточных вод является сложной областью современной аналитической химии. Это объясняется прежде всего тем, что определяемые вещества могут содержаться в очень малых концентрациях. Кроме того, в сточных водах весьма часто присутствуют вещества, мешающие определению. Состав сточных вод изменяется при стоянии.

В силу сказанного определение одного и того же компонента в разных типах сточных вод нередко требует видоизменения метода ввиду различия их химического состава.

Прежде чем приступить к определению того или иного компонента, аналитик должен ознакомиться с технологией производства, получить необходимые данные о качественном составе стоков, учесть возможные влияния отдельных ингредиентов и в ряде случаев проделать предварительные опыты по анализу искусственных смесей известного состава, близкого к предполагаемому составу сточной воды.

В настоящем руководстве описаны методы определения лишь тех компонентов, которые наиболее часто встречаются в промышленных сточных водах, причем не излагаются методы анализа солевого состава сточных вод (кальция, магния и др.), приведенных в первой главе книги.

I. ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К ВЗЯТИЮ ПРОБ СТОЧНОЙ ВОДЫ И ПОДГОТОВКЕ ИХ ДЛЯ АНАЛИЗА

Существуют определенные правила отбора проб производственных сточных вод.

Если количество спускаемой сточной воды практически постоянно во времени, то можно ограничиться только средними пробами (равные количества жидкости берут через одинаковые промежутки

времени, смешивают и отбирают определенный объем для анализа).

Если количество и качество сточных вод меняется во времени, отбирают средне пропорциональную пробу, для чего необходимо измерить расход сточных вод за определенные периоды времени и отбирать пропорциональные им количества жидкости.

Например, на производстве спускается в первый час 2 $м^3$ сточной воды, во второй — 5 $м^3$, в третий — 1 $м^3$ и т. д.

Соответственно отбирают 2,5 и 1 литр воды, смешивают и отбирают часть ее для анализов.

При спуске сточных вод в водоемы, кроме исследований сточной воды, необходимо также производить анализ воды водоема выше и ниже впадения в него стока, чтобы выяснить степень влияния сточных вод на водоем.

Пробу воды в большинстве случаев предпочтительнее отбирать при помощи батометра. Перед отбором пробы бутылку 2—3 раза споласкивают исследуемой водой.

Анализ отобранной пробы необходимо производить сразу после взятия или в крайнем случае через 12 часов; если такой возможности нет, пробу необходимо консервировать, чтобы предупредить возможное изменение ее химического состава. При этом рекомендуется пробы, предназначенные для определения пиридиновых оснований, всех видов связанного азота и окисляемости, консервировать прибавлением 2 *мл* серной кислоты (1 : 3) на 1 литр воды. Пробы для определения солевого состава консервируются хлороформом (2 *мл* на 1 *л* воды).

Для определения фенолов пробу воды подщелачивают, прибавляя 5 *г* едкой щелочи на литр воды.

Сероводород определяют в специально отобранной пробе: для этого в склянку емкостью 250 *мл* наливают 6—10 *мл* 10% раствора уксуснокислого кадмия, а затем доливают испытуемой водой до пробки, чтобы в сосуде не оставалось пузырьков воздуха.

Пробы, предназначенные для определения БПК, не консервируются, а хранятся при температуре 3—4°С и анализируются в первую очередь.

II. СХЕМА АНАЛИЗА ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Производственные сточные воды отличаются большим разнообразием. В связи с этим в схему анализа их входят: 1) ряд общих определений; 2) определение специфических показателей.

К общим определениям относятся:

1. Температура. 2. Запах. 3. Цвет. 4. Прозрачность. 5. Взвешенные вещества. 6. pH. 7. Щелочность или кислотность. 8. Окисляемость. 9. Биохимическое потребление кислорода.

Определение специфических показателей зависит от типа производства (см. табл. 15).

Таблица 15

Определение специфических показателей в зависимости от типа производства

Наименование предприятия	Цианиды	Пиридин	Смолы и масла	Летучие жирные кислоты	Метиловый спирт	Капролактам	Амины	Нитросоединения	H_2S, сульфиды	Хром	Мышьяк	Сапонин	Фурфурол	Фенолы	Роданиды	Твердые жиры
Коксохимический з-д	+	+	+											+	+	
Газогенераторная станция	+	+	+	+	+									+	+	
З-д синтетического волокна						+										
Производство полупродуктов и красителей							+	+								
Лесохимический з-д			+	+	+								+	+		
Целлюлозно-бумажный комбинат									+					+		
Азотно-туковый з-д	+										+			+	+	
Кожевенный з-д										+						
Сахарный з-д												+				
Молочный з-д				+												+

III. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Температура

Определение температуры производится на месте взятия пробы аналогично тому, как это выполняется для питьевых вод (см. ч. I, стр. 11)

Цвет

Цвет определяется качественно и характеризуется словами светло-желтый, бурый, темно-коричневый и т. д.

При большом количестве взвешенных веществ определение производится в фильтрованной воде. При анализе окрашенных сточных вод определяют разбавление, при котором окраска становится неразличимой. Для этого сточную воду последовательно разбавляют дистиллированной водой (в 10, 20 раз и т. д.), наливают в цилиндр бесцветного стекла и находят то разбавление, при котором окраска слоя воды толщиной в 10 *см* становится незаметной при рассмотрении на белом фоне.

Запах

По запаху промышленных сточных вод можно до некоторой степени судить о их химическом составе. Иногда по запаху удается определить присутствие в сточных водах вещества в количествах, находящихся за пределами чувствительности химических реакций. Определение запаха производится при комнатной температуре и при нагревании до 60° (см. ч. I, стр. 11).

Определяют также величину разбавления, при которой запах не ощущается. С этой целью разбавляют сточную воду дистиллированной водой в 10, 20, 50, 100 и т. д. раз и находят разбавление, при котором запах на холоду и при нагревании не ощущается. Если дистиллированная вода имеет запах, пользуются водопроводной водой, пропущенной через слой активированного угля.

Прозрачность

Определение прозрачности производится, так же как и для питьевых вод, по шрифту Снеллена (см. ч. I, стр. 13). Для определения нужно брать хорошо взболтанную воду. Прозрачность отстоявшейся воды определяется дополнительно.

Взвешенные вещества

Определение взвешенных веществ производится весовым (см. ч. I, стр. 13) или объемным методом. Для последнего тщательно перемешанную пробу сточной воды наливают в цилиндр Лысенко до пробки, еще раз перемешивают, закрепляют в штативе и оставляют на 2 часа[1]. В течение этого времени несколько раз придают жидкости в сосуде вращательное движение, чтобы оторвать частицы осадка, приставшие к стенкам.

Цилиндр Лысенко (рис. 14) представляет собой цилиндрический сосуд, закрытый притертой пробкой, емкостью 500 *мл*, кони-

---

[1] Если полного осаждения не происходит, продолжают наблюдения до 12 часов.

чески суживающийся книзу и переходящий в цилиндрическую градуированную трубку емкостью 10—20 *мл* с делениями на 0,1 *мл*.

Через 2 часа отмечают объем осадка в *мл*. Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{V_1}{V_2} \cdot 100,$$

где

X — количество взвешенных веществ в сточной воде в % по объему;

V_1 — объем осадка в *мл*;

V_2 — объем испытуемой воды в *мл*.

Аналогично определяются и всплывающие грубодисперсные примеси.

В этом случае цилиндр Лысенко заполняют тщательно перемешанной сточной водой до пробки, следя за тем, чтобы в жидкости не осталось пузырьков воздуха, переворачивают пробкой вниз и оставляют на 2 часа в штативе.

По истечении указанного времени отмечают объем всплывших на поверхность частиц смолы или других всплывающих веществ. Расчет производят по формуле: $X = \frac{V_1}{V_2} \cdot 100$, где x — количество всплывающих примесей в % по объему; V_1 — объем всплывающих примесей в *мл*; V_2 — объем испытуемой воды в *мл*.

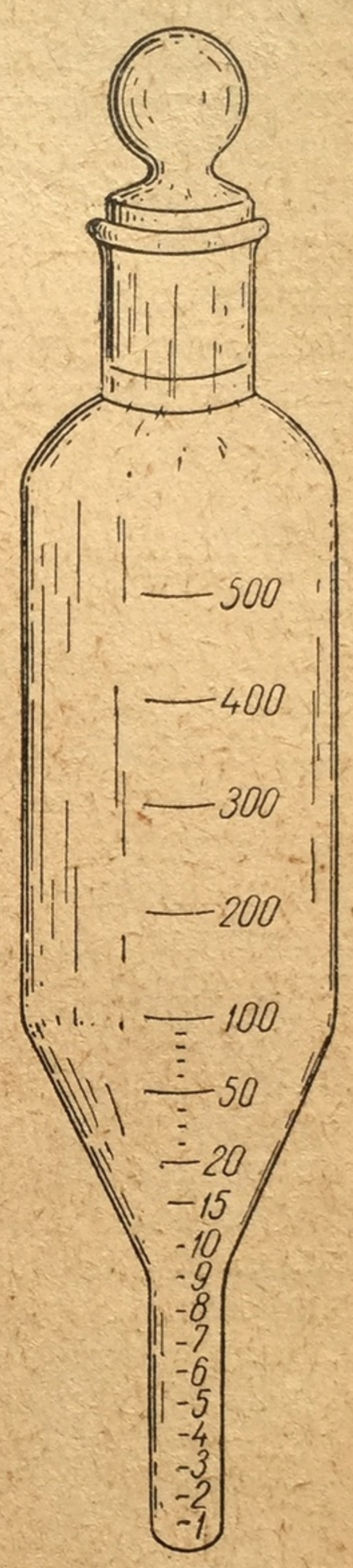


Рис. 14. Цилиндр Лысенко.

Определение концентрации ионов водорода

Определение концентрации ионов водорода (или pH) имеет очень большое значение для установления влияния сточных вод на водоем, а также для выбора метода очистки.

Определение pH в производственных сточных водах может быть произведено двумя методами: колориметрическим и потенциометрическим.

Применяя колориметрический метод при измерении низких величин pH (меньше 6), пользуются фосфатными буферными смесями Серенсена, а в качестве индикатора применяют бромкрезолпурпур. При измерении pH в пределах 7—8 пользуются борно-боратными буферными смесями Палича и индикатором фенолрот. Измерение высоких pH (больше 8) производят при помощи борно-боратных и боратно-щелочных смесей. Индикатором служит тимолблау. Колориметрический метод определения pH изложен в ч. I данной книги.

Этот метод может быть применен только в неокрашенных и прозрачных сточных водах, не содержащих веществ, разрушающих индикаторы (гипохлориты, свободный хлор и т. д.). В окрашенных и мутных сточных водах колориметрическое определение исключается, и pH может быть определен только потенциометрически с применением стеклянного электрода. Этот метод подробно освещен в специальной литературе [1].

Применение других электродов — водородного, хингидронного и сурьмяного — не может быть рекомендовано из-за наличия в сточных водах окислителей (хроматы, нитраты), восстановителей (сульфиды), тяжелых металлов (ртуть, кадмий, медь и др.) и поверхностно-активных соединений.

Щелочность

Щелочностью называется общее содержание в воде соединений, реагирующих с сильными кислотами. К этим соединениям относятся сильные основания (едкий натр, едкое кали), слабые основания (аммиак, анилин, пиридин и др.) и соли слабых кислот (например, бикарбонаты, сульфиды и т. д.).

Определение щелочности производят только в водах, имеющих щелочную реакцию (pH>7). Определение заключается в титровании испытуемой пробы соляной или серной кислотой в присутствии смешанного индикатора (индикатор в смеси с красителем), изменяющего свою окраску в области низких pH (3—4).

Ход определения. 100 *мл* анализируемой сточной воды наливают в коническую колбу емкостью 300 *мл*. Если вода мутная, ее предварительно профильтровывают, окрашенную — разбавляют дистиллированной водой.

К пробе воды прибавляют 7—8 капель смешанного индикатора (см. ч. I, стр. 19). Если вода окрашивается в зеленый цвет, это свидетельствует о том, что реакция ее щелочная [2]. Тогда титруют 0,1 н. раствором соляной или серной кислоты до перехода окраски из зеленой в розовую.

Расчет — см. ч. I, стр. 19.

Кислотность

Кислотностью называется общее содержание в воде веществ, реагирующих с сильными основаниями. К этим соединениям относятся сильные кислоты (соляная, серная и др.), слабые кислоты (угольная, свободный сероводород и др.) и соли слабых оснований (аммиачные, соли железа и алюминия). Определение кислотности производят только в водах, имеющих кислую реакцию (pH<4).

---

[1] Современные методы химического анализа природной воды, изд. АН СССР, 1955.

[2] Если вода окрашивается в розовый цвет, то в ней производят определение кислотности.

Ход определения. 100 *мл* сточной воды наливают в коническую колбу емкостью 300 *мл*. Мутную воду предварительно профильтровывают, а окрашенную разбавляют дистиллированной водой.

К пробе прибавляют 1 *мл* 1% спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором едкого натра до появления неисчезающего розового окрашивания. Если при прибавлении индикатора вода сразу окрашивается в розовый цвет, это свидетельствует о том, что она имеет щелочную реакцию (pH>8,4), и поэтому в ней следует определять щелочность.

Кислотность вычисляют по формуле: $X = \frac{nN1000}{V}$,

где
X — кислотность в *мг-экв* на литр;
n — количество *мл* едкой щелочи, ушедшей на титрование;
N — нормальность раствора щелочи;
V — объем сточной воды, взятой для определения.

Реактивы: 1. 0,1 н. раствор едкого натра.
2. 1% спиртовый раствор фенолфталеина.

Биохимическое потребление кислорода

Определение БПК дает представление о содержании органических веществ в сточной воде (см. ч. I, стр. 19) Нужно иметь в виду, что в результате биохимических процессов окисляется только нестойкое органическое вещество, практически полное окисление которого происходит в течение 20 дней.

Некоторая часть органического вещества в виде устойчивых соединений — водный гумус — не минерализуется за этот срок, поскольку окисление его происходит с очень малой скоростью. Этим обстоятельством объясняется небольшая величина БПК незагрязненных природных вод, органическое вещество которых в основном состоит из гумуса.

Для практических целей обычно определяют БПК за 5 суток; для более полной характеристики сточной воды определяют $БПК_{10}$ и $БПК_{20}$.

Существуют 2 метода определения величины БПК: метод разбавления и нитратный метод.

а) Определение БПК методом разбавления

Исследуемую сточную воду разбавляют чистой водой таким образом, чтобы содержащегося в ней кислорода с избытком хватило для окисления всех органических веществ. Необходимое разбавление можно подсчитать ориентировочно по результатам определения окисляемости. Для этого величину бихроматной окисляемости (см. ниже), выраженную в *мг* кислорода на литр, делят на 4 или 5 (величина, соответствующая примерно половине содержания кислорода в чистой разбавляющей воде). Полученный результат показывает, во сколько раз надо разбавить анализируемую воду.

Для разбавления пользуются специально для этого приготовленной водой, не содержащей едких щелочей, кислот, свободного хлора и других бактерицидных веществ. БПК такой воды должно быть незначительно.

Нельзя пользоваться водопроводной водой, содержащей железо и свободный хлор. Содержание аммонийного, нитритного и нитратного азота в этой воде не должно быть выше 0,01 *мг/л*.

Если водопроводная вода не удовлетворяет указанным требованиям, для разбавления применяют дистиллированную воду, в которую вносят по 1 *мл* следующих питательных солей (на 1 литр воды):

А. Фосфатный буферный раствор: растворяют 8,5 *г* KH_2PO_4, 21,75 *г* K_2HPO_4, 33,4 *г* $Na_2HPO_4 . 7H_4O$ и 1,7 *г* NH_4Cl в дистиллированной воде и доводят до литра; pH этого раствора равен 7,2.

Б. Раствор сернокислого магния: растворяют 22,5 *г* $MgSO_4 . 7H_2O$ в одном литре дистиллированной воды.

В. Раствор хлористого кальция: растворяют 27,5 *г* безводного хлористого кальция в одном литре дистиллированной воды.

Г. Раствор хлорного железа: растворяют 0,25 *г* шестиводного хлорного железа в одном литре дистиллированной воды.

Ход определения. Разбавленную сточную воду разливают в 2 калиброванные склянки емкостью 200—300 *мл* с притертыми пробками, наполняя их доверху, и закрывают пробками так, чтобы под ними не оказалось пузырьков воздуха.

Таким же образом наполняют 2 калиброванные склянки одной разбавляющей водой (контрольный опыт).

В одной из склянок с испытуемой водой и в одной из склянок с разбавляющей водой сразу же определяют растворенный кислород.

Остальные склянки ставят в темное место и выдерживают при температуре 18—20°С в течение 5 суток.

Через 5 суток (от начала инкубации) определяют содержание растворенного кислорода в склянке с испытуемой и разбавляющей водой. Разность в содержании кислорода между первым и пятым днем инкубации будет представлять биохимическое потребление кислорода сточной водой за 5 суток.

Расчет: $X = [(A - B) - K(a - в)]\ p$,

где

X — биохимическое потребление кислорода в *мг/л*;

(A — B) — разность между начальным и конечным содержанием кислорода в разбавленной сточной воде;

(a — в) — разность между начальным и конечным содержанием кислорода в разбавляющей воде;

K — коэффициент, показывающий, сколько частей разбавляющей воды приходится на 1000 частей разбавленной сточной воды;

p — разведение.

Кислород определяется методом Винклера (см. часть I, стр. 15) только при отсутствии в воде нитритов, солей железа, свободно-

го хлора и сульфитов. При наличии указанных соединений необходимо применять модификации метода.

Так, при наличии нитритов свыше 0,1 *мг/л* и железа более 1 *мг/л* применяется модификация Ридель-Стюарта, в присутствии свободного хлора и гипохлоритов—щелочно-гипохлоритная модификация.

б) Определение кислорода в модификации Ридель-Стюарта

В присутствии нитритов и солей трехвалентного железа получаются завышенные результаты определения кислорода, поскольку указанные соединения реагируют с йодистым калием, выделяя йод. При этом происходят следующие реакции:

1. $2HNO_2 + 2KJ + H_2SO_4 \rightarrow J_2 + K_2SO_4 + 2NO + 2H_2O$;
2. $Fe_2(SO_4)_3 + 2KJ \rightarrow K_2SO_4 + J_2 + 2FeSO_4$.

При наличии указанных соединений нитриты предварительно окисляются перманганатом калия в кислой среде до нитратов, а железо переводится в комплексное соединение при помощи фтористого натрия. В дальнейшем определение производят по методике Винклера, но вносят большее количество щелочного раствора йодистого калия (KOH + KJ), чтобы нейтрализовать прибавленную вначале для создания кислой среды серную кислоту.

Ход определения. В заполненную водой кислородную склянку вносят 0,5 *мл* серной кислоты (2 : 3), 1—2 капли 2% раствора перманганата калия и 2 *мл* 40% раствора фтористого калия. Закрывают пробкой и хорошо перемешивают. Красно-фиолетовая окраска жидкости должна сохраняться 5—10 минут. Если окраска исчезает, прибавляют еще несколько капель перманганата. При этом окисляются нитриты, закисное железо, сульфиды и некоторые нестойкие органические соединения. Избыток перманганата разрушают прибавлением нескольких капель 2% раствора щавелевой кислоты (до полного обесцвечивания).

После полного обесцвечивания перманганата в склянку прибавляют 1 *мл* раствора сернокислого марганца и 3 *мл* щелочного раствора йодида калия. Далее поступают согласно методике Винклера (см. часть I, стр 15).

в) Определение кислорода в щелочно-гипохлоритной модификации

При наличии в сточной воде свободного хлора и гипохлоритов необходимо параллельно с определением кислорода по методу Винклера произвести определение свободного хлора, поскольку последний также окисляет йодистый калий до йода и, следовательно, приводит к завышенным результатам определения кислорода.

С этой целью в коническую колбу вносят такой же объем воды, который был налит в кислородную склянку, прибавляют то же количество щелочного раствора йодистого калия и серной кислоты.

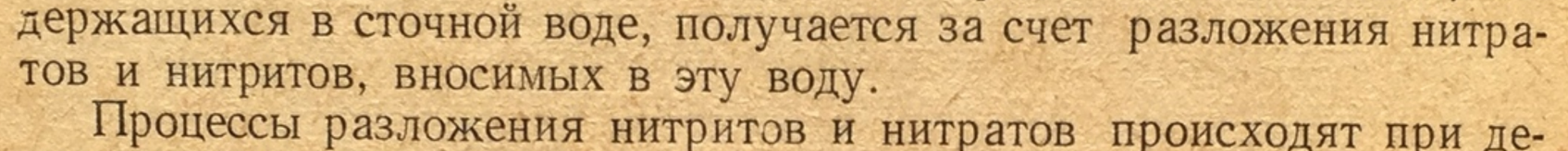
Выделившийся йод оттитровывают тиосульфатом. Количество *мл* тиосульфата, ушедшего на титрование, отнимают от результатов титрования йода по методу Винклера.

При соблюдении этих условий получаются правильные результаты определения кислорода в присутствии свободного хлора.

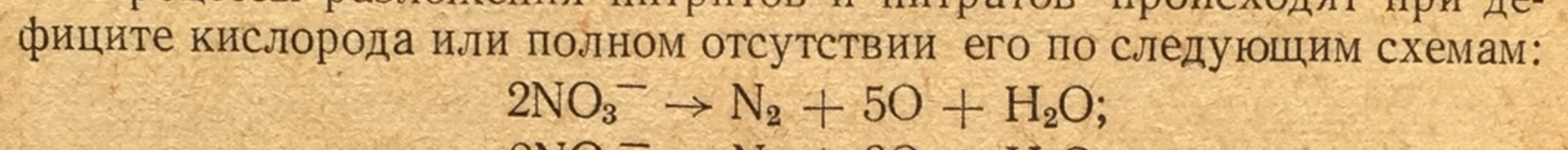
г) Определение БПК нитратным методом

Нитратный метод определения БПК заключается в том, что кислород, необходимый для окисления органических веществ, содержащихся в сточной воде, получается за счет разложения нитратов и нитритов, вносимых в эту воду.

Процессы разложения нитритов и нитратов происходят при дефиците кислорода или полном отсутствии его по следующим схемам:



$$2NO_3^- \rightarrow N_2 + 5O + H_2O;$$



$$2NO_2^- \rightarrow N_2 + 3O + H_2O.$$

При этом на 1 *мг* азота нитратов выделяется 2,86 *мг* кислорода, на 1 *мг* азота нитритов — 1,71 *мг* кислорода.

Нитратный метод менее сложен, чем метод разбавления, и поэтому может применяться в полевых условиях. Однако метод разбавления значительно лучше отражает естественные условия разбавления в водоеме и является поэтому основным методом определения биохимического потребления кислорода.

Применение нитратного метода желательно в тех случаях, когда необходимо определить полную величину биохимического потребления кислорода — $БПК_{20}$, поскольку определение этой величины методом разбавления связано с ошибкой из-за явлений нитрификации, наступающих с 7—8-го дня.

При нитратном методе определения БПК процессы нитрификации (окисление аммиака до нитритов и нитратов) практически не имеют места.

Ход определения. По 10—20 *мл* раствора нитрата натрия вводят в 4 кислородные склянки и заполняют их доверху сточной водой. В одной из них определяют содержание кислорода, а в другой — нитратов и нитритов (см. ч. I) в первый день, а в двух других производят эти же определения через 5 дней.

Разность между кислородом, добавленным в форме нитратов и нитритов, и кислородом, найденным по окончании периода инкубации, представляет собой биохимическое потребление кислорода. Расчет ведут по формуле:

$$X = (a_1 - a_2) + 2{,}86(в_1 - в_2) + 1{,}71(c_1 - c_2),$$

где

X — биохимическое потребление кислорода в *мг/л*;

a_1 — начальное содержание кислорода в сточной воде в *мг/л*[1];

a_2 — конечное содержание кислорода в сточной воде в *мг/л*;

$в_1$ — начальное содержание азота нитратов в *мг/л*;

[1] a_1 — обычно равно нулю.

$в_2$ — конечное содержание азота нитратов в *мг/л*;
$с_1$ — начальное содержание азота нитритов в *мг/л*;
$с_2$ — конечное содержание азота нитритов в *мг/л*;
2,86 — количество *мг* кислорода, которое выделяется при восстановлении 1 *мг* азота нитратов;
1,71 — количество *мг* кислорода, которое выделяется при восстановлении 1 *мг* азота нитритов;

Реактивы: 1. Стандартный раствор нитрата натрия: 21,28 *г* химически чистого нитрата натрия растворяют в литре дистиллированной воды. 1 *мл* этого раствора эквивалентен 10 *мг* кислорода. Остальные реактивы те же, что и в методе разбавления.

Окисляемость

Существуют два метода определения окисляемости: бихроматный и перманганатный. Бихроматный метод дает представление почти о полном содержании органического вещества в сточной воде; перманганат калия окисляет только легко окисляющиеся органические вещества (например, гуминовые соединения).

а) Определение окисляемости бихроматным методом

Определение органического вещества в сточных водах методом бихроматной окисляемости заключается в окислении его бихроматом калия в присутствии катализатора (сернокислое серебро или сернокислая ртуть). Для создания необходимой кислотности среды пользуются раствором бихромата калия, приготовленным на серной кислоте. Окисление производится при кипячении пробы в течение 5 минут. В этих условиях достигается практически полное окисление органического вещества.

Избыток непрореагировавшего бихромата калия оттитровывается раствором соли Мора $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2 SO_4 \cdot 6H_2O$ в присутствии дифениламина [1].

Раствор вначале титрования имеет буро-синюю окраску (смешанная окраска бихромата калия и окисленной формы дифениламина). В процессе титрования бихромат калия восстанавливается до солей трехвалентного хрома. и в конце титрования окраска становится синефиолетовой (окраска окисленной формы дифениламина). Когда весь бихромат калия оттитрован, дифениламин становится бесцветным (восстановленная форма), а проба приобретает зеленый цвет, присущий солям трехвалентного хрома.

В процессе титрования двухвалентное железо окисляется в трехвалентное, а последнее, как окислитель, сообщает синюю окраску дифениламину, когда бихромат калия уже оттитрован. Для устранения влияния окисного железа прибавляют фосфорную кислоту, которая образует с ним комплексное соединение.

---

[1] Дифениламин в присутствии бихромата калия (или любого другого окислителя) находится в окисленной форме и окрашен в синий цвет.

Ход определения. 0,5—5 *мл* сточной воды (в зависимости от содержания органических веществ) вносят в плоскодонную шарообразную колбу емкостью 100 *мл*, всыпают 100 *мг* сернокислого серебра, приливают 20 *мл* 0,4 н. сернохромовой смеси и кипятят на песчаной бане ровно 5 минут по секундомеру. Во время кипения горло колбы закрывают воронкой, чтобы объем смеси оставался неизмененным. Производить кипячение в конических колбах не следует, так как из-за большой поверхности дна происходит выпаривание смеси и разложение бихромата калия. По окончании кипения содержимое колбы охлаждают, разбавляют дистиллированной водой, переносят в коническую колбу, доводят объем до 100 *мл*, прибавляют 2 *мл* фосфорной кислоты, 7—8 капель дифениламина и титруют 0,2 н. раствором соли Мора до перехода окраски из синей в зеленую. Параллельно проделывают контрольный опыт; для этого в такую же колбу всыпают навеску сернокислого серебра, приливают 20 *мл* сернохромовой смеси и проделывают все вышеуказанные операции. Разность между количеством *мл* раствора соли Мора, ушедшим на титрование контрольной и испытуемой пробы, представляет собой количество сернохромовой смеси, ушедшей на окисление органического вещества в данном объеме сточной воды.

Расчет бихроматной окисляемости (в *мг/л* кислорода) ведется по формуле:

$$X = \frac{A \cdot N \cdot 8 \cdot 1000}{V},$$

где

A — разность между количеством *мл* раствора соли Мора, ушедшей на титрование контрольной и испытуемой пробы;
N — нормальность раствора соли Мора;
V — объем сточной воды, взятой для определения;
8 — эквивалент кислорода.

Реактивы: 1. 0,4 н. раствор сернохромовой смеси: 20 *г* тонко измельченного бихромата калия растворяют в 500 *мл* дистиллированной воды. Затем к этому раствору прибавляют 500 *мл* концентрированной серной кислоты.

2. 0,2 н. раствор соли Мора: 80 *г* соли Мора (непожелтевшие кристаллы) растворяют в литре дистиллированной воды, содержащей 20 *мл* концентрированной серной кислоты.

3. Раствор дифениламина: 0,5 *г* дифениламина растворяют в 100 *мл* серной кислоты и этот раствор вливают в 20 *мл* дистиллированной воды.

4. 85% фосфорная кислота.

5. Сернокислое серебро х. ч.

б) Определение окисляемости перманганатным методом

Ход определения. 5—10 *мл* сточной воды (при значительном содержании органических веществ сточную воду предварительно разбавляют) наливают в мерную колбу и доводят до 100 *мл* дистиллированной водой. Переносят смесь в коническую колбу емкостью 250 *мл*, прибавляют 5 *мл* серной кислоты (1 : 3) и 10 *мл* 0,01 н. раствора $KMnO_4$. Одновременно для контроля определяют окисляемость дистиллированной воды, для чего в другую коническую

колбу такой же емкости вносят 100 *мл* дистиллированной воды и прибавляют те же реактивы. Ставят обе колбы на плитку и кипятят ровно 10 минут, считая от появления первых пузырьков. По истечении 10 минут в обе колбы приливают по 10 *мл* 0,01 н. раствора щавелевой кислоты и титруют перманганатом до слабо розовой окраски.

Расчет производят по формуле:

$$X = [(n + 10)N - 10 \cdot 0{,}01]8 \cdot 10,$$

где

X — окисляемость смеси в *мг/л* кислорода;

n — количество *мл* 0,01 н. раствора $KMnO_4$, которое ушло на титрование;

8 — эквивалент кислорода;

N — нормальность раствора $KMnO_4$.

Окисляемость сточной воды «а» рассчитывают по формуле:

$$a = (x - kb) \cdot \frac{100}{V},$$

где

X — окисляемость смеси в *мг/л* кислорода;

к — коэффициент, показывающий, сколько частей дистиллированной воды приходится на 100 частей смеси;

b — окисляемость дистиллированной воды;

V — объем сточной воды, взятой для определения.

Реактивы — см. ч. I., стр. 21.

Азот аммиачный

Аммиак в производственных сточных водах определяют после предварительной отгонки из щелочной среды.

При этом в дистилляте большие количества аммиака определяются объемным методом, а малые — колориметрически, с реактивом Несслера.

а) *Объемный метод*

10—50 *мл* сточной воды (в зависимости от содержания аммиака) вносят в колбу Вюрца, прибавляют 1 *г* окиси магния и перегоняют с водяным паром в приемник, в который предварительно наливают 25 *мл* 0,1 н. раствора серной кислоты (для поглощения аммиака).

По окончании отгонки оттитровывают избыток кислоты 0,1 н. раствором NaOH в присутствии метилоранжа.

Расчет производится по формуле:

$$X = 14(25 - a)N\frac{1000}{V},$$

где

14 — эквивалент азота;

а — количество *мл* щелочи, ушедшей на титрование избытка кислоты;

N — нормальность раствора NaOH;

V — объем сточной воды, взятой для перегонки;

X — содержание аммиачного азота в сточной воде в *мг/л*.

Реактивы: 1. Химически чистая окись магния.
2. 0,1 н. раствор H_2SO_4.
3. 0,1 н. раствор NaOH.

б) Колориметрическое определение

Описанный визуальный метод (см. ч. I, стр. 21) определения аммиачного азота при наличии аппаратуры целесообразно заменить фотоэлектрическим (см. ч. I, стр. 9). При работе по этому методу не требуется приготовления стандартных растворов для каждого определения, предотвращаются ошибки, зависящие от особенностей зрения аналитика, и повышается точность определения.

Для определения аммиака или других ингридиентов методом фотоэлектроколориметрии необходимо прежде всего построить калибровочную кривую.

Принцип построения калибровочной кривой заключается в том, что приготовляется серия стандартных растворов с определенной концентрацией данного вещества и после прибавления соответствующих реактивов измеряется светопоглощение окрашенных растворов на фотоэлектроколориметре. Контрольным раствором всегда служит дистиллированная вода, к которой прибавляются те же реактивы в стандартных условиях.

Светофильтр и размер кюветы подбираются таким образом, чтобы малым концентрациям определяемых стандартных растворов соответствовали достаточно большие показания прибора. В этом случае ошибка измерения будет наименьшей.

Рекомендуется измерять светопоглощение в пределах показаний прибора 0,1—0,7. Этим определяются минимальная и максимальная концентрация соответствующих стандартных растворов.

Измерив светопоглощение серии стандартных растворов, составляют таблицу и приступают к построению калибровочной кривой. Для этого на оси абсцисс откладывают концентрации соответствующих стандартных растворов в *мг/л*, а на оси ординат — оптические плотности, соответствующие окрашенным растворам данной концентрации.

Из полученных на обеих осях точках восстанавливают перпендикуляры до взаимного пересечения.

Точки пересечения соединяют между собой. Таким образом получают калибровочную кривую для данного иона.

В дальнейшем при определении концентрации данного иона в испытуемой воде измеряют в тех же условиях светопоглощение окрашенного раствора и по калибровочной кривой определяют искомую величину. При этом необходимо, чтобы объем испытуемой пробы совпадал с объемом стандартных растворов (обычно 50 *мл*). Если окраска слишком густая, берется соответственно меньший объем сточной воды и доводится дистиллированной водой до 50 *мл*. В этом случае при расчете необходимо величину кон-

центрации, найденную по калибровочной кривой, умножать на разведение P.

$$P = \frac{50}{V},$$

где V — объем сточной воды, взятой для определения.

В качестве примера приведем построение калибровочной кривой для аммиачного азота.

Приготовляется стандартный раствор хлористого аммония с содержанием аммиачного азота 1 *г/л*. Разведением этого раствора в 100 раз получают рабочий раствор с содержанием аммиачного азота 0,01 *г/л*. В 1 *мл* этого раствора содержится 0,01 *мг* азота.

В мерные колбы на 50 *мл* вносят 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4 и 5 *мл* рабочего стандартного раствора хлористого аммония (в 1 *мл* 0,01 *мг* азота) и доводят безаммиачной дистиллированной водой до метки. Получают серию стандартных растворов с содержанием аммиачного азота 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 и 1 *мг/л*. В пустую колбу вносят 50 *мл* безаммиачной дистиллированной воды (контрольная проба).

К стандартным растворам и к контрольной пробе прибавляют 1 *мл* сегнетовой соли, 1 *мл* реактива Несслера и через 10 минут измеряют светопоглощение на фотоколориметре с синим светофильтром в кювете длиной 30 *мм*.

Не следует прибавлять реактивы одновременно во все стандартные растворы, поскольку измерение занимает 2—3 минуты и, таким образом, время развития окраски для различных стандартных растворов будет неодинаковым.

Обычно прибавляют реактивы в 3 стандартных раствора и контрольную пробу, а через 10 минут в следующие 3 стандарта и новую контрольную пробу.

Данные измерений представлены в табл. 16.

Таблица 16

Концентрация азота в стандартных растворах в *мг/л*	Оптическая плотность
0,1	0,007
0,2	0,042
0,3	0,076
0,4	0,100
0,6	0,160
0,8	0,220
1,0	0,265

По данным, приведенным в таблице, вычерчен график № 15. На оси абсцисс отложены концентрации стандартных растворов, на оси ординат — соответствующие им оптические плотности.

Калибровочная кривая имеет вид прямой линии, поскольку в данном случае интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации.

В этом случае концентрацию веществ можно определить не только графически, но и непосредственно по уравнению.

Как известно, уравнение прямой линии в общем случае имеет следующий вид:

$$У = KX + D,$$

где K представляет собой тангенс угла наклона данной прямой линии к оси абсцисс (см. график),

D — величина отрезка, отсекаемого данной прямой на оси ординат;

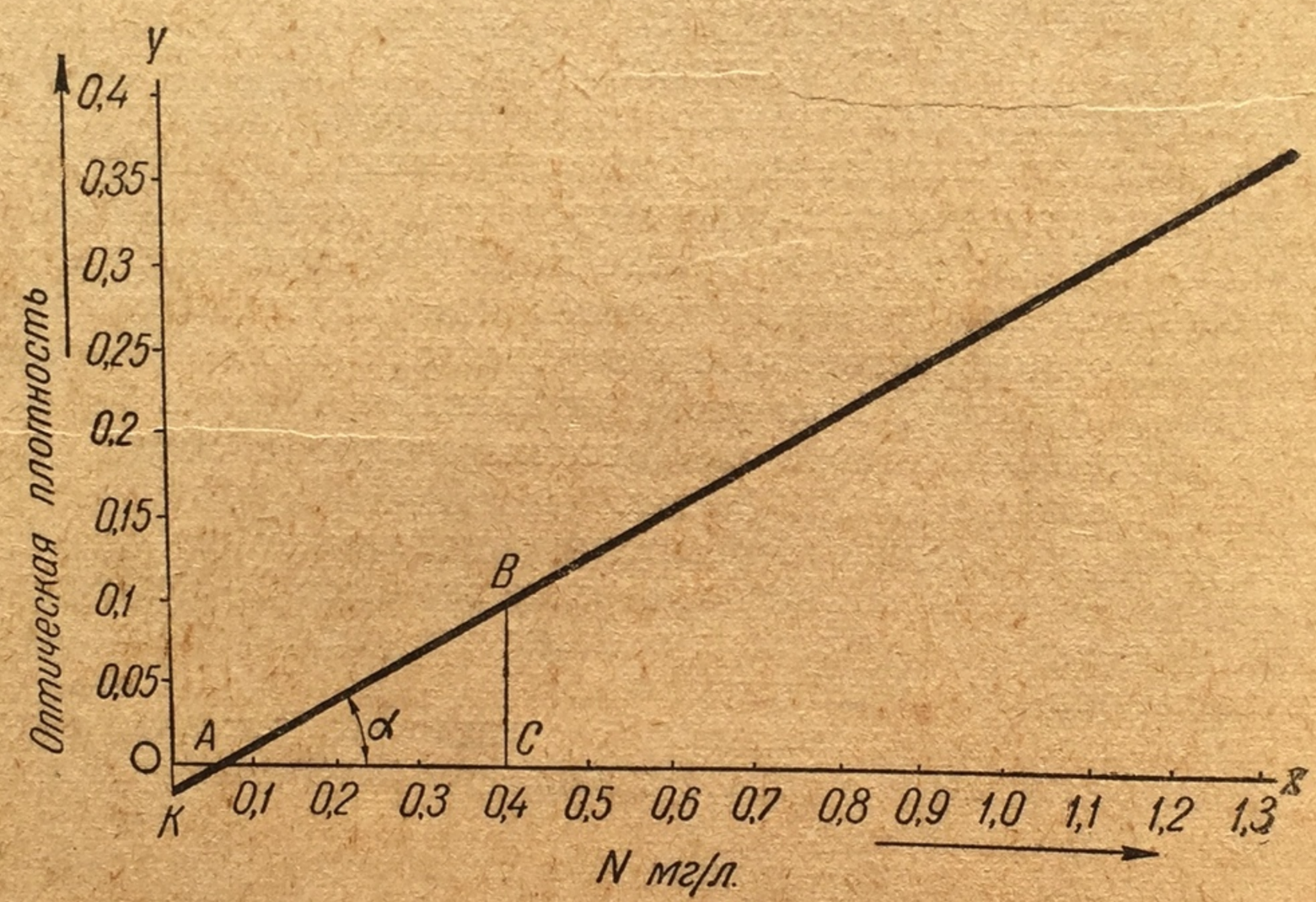


Рис. 15. Калибровочная кривая для определения аммиачного азота.

В нашем случае У соответствует оптической плотности;
X — концентрации в *мг/л*;
D — представляет отрезок OK.

$$K = \operatorname{tg} \alpha = \frac{BC}{AC}.$$

Согласно графику, BC = 14 *мм*, AC = 24 *мм*.
Принимая во внимание масштабы на осях, получаем:

$$K = \frac{14 \cdot 0{,}05}{24 \cdot 0{,}1} = 0{,}29,$$

где 0,05 и 0,1 представляют собой масштабы на осях ординат и абсцисс соответственно, D = OK = —0,02.
Таким образом:

$$У = 0{,}29\,X - 0{,}02;\ У + 0{,}02 = 0{,}29\,X,$$

откуда

$$X = 3{,}4\ Y + 0{,}066.$$

Следовательно, для определения концентрации данного иона в испытуемой воде достаточно измерить светопоглощение окрашенного раствора в стандартных условиях (Y) и по уравнению определить искомую величину (X).

Такие простые расчеты по уравнениям возможны в тех случаях, когда калибровочная кривая представляет прямую линию. В остальных случаях концентрация определяется графически.

Азот нитритный

Визуальное определение (см. ч. I стр. 23).

Определение можно также производить на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кювете длиной 50 *мм*. В этом случае концентрация нитритного азота определяется по калибровочной кривой. Калибровочная кривая представляет кривую типа параболы с начальным прямолинейным участком. Минимальная концентрация нитритного азота, которая определяется по калибровочной кривой, составляет 0,002 *мг/л*, максимальная — 0,06 *мг/л*.

Азот нитратный

Определение см. ч. I, стр. 23.

Сероводород

Сероводород в свободном виде и в связанном состоянии (в виде сульфидов) встречается в производственных сточных водах, содержащих белковые соединения. В некоторых типах сточных вод наличие сероводорода обусловлено образованием его в ходе технологического процесса (воды от пирогенного разложения топлива, содержащего серу, сточные воды от производства искусственного волокна и т. д.).

Определение сероводорода основано на связывании его в виде сульфида кадмия, растворении осадка в титрованном растворе йода и определении избытка йода титрованием тиосульфатом натрия в кислой среде.

Ход определения. 50—100 *мл* сточной воды помещают в склянку с притертой пробкой и прибавляют 10 *мл* раствора уксуснокислого кадмия. При этом в присутствии сероводорода выпадает сульфид кадмия (осадок, окрашенный в желтый цвет) по реакции:

$$Cd^{2+} + H_2S \rightarrow CdS + 2H^+.$$

После отстаивания осадок отфильтровывают и тщательно промывают горячей водой. Затем фильтр с осадком помещают в склянку, где производилось осаждение, приливают 25 *мл* 0,05 н. раст-

вора йода, 5 *мл* соляной кислоты (1 : 9) и растирают осадок на фильтре стеклянной палочкой. При этом сульфид кадмия (в кислой среде) окисляется йодом до серы.

$$H_2S + J_2 = S + 2HJ.$$

Избыток йода оттитровывается 0,05 н. раствором тиосульфата натрия.

$$J_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaJ.$$

Расчет производится по формуле:

$$X = \frac{(25-a)\,N \cdot 17 \cdot 1000}{V},$$

где

X — количество сероводорода в *мг/л*;

a — количество *мл* раствора тиосульфата, ушедшего на титрование;

N — нормальность раствора тиосульфата;

V — объем пробы, взятой для определения;

17 — эквивалент сероводорода.

При малых количествах сероводорода (<5*мг/л*) пользуются 0,01 н. растворами йода и тиосульфата.

Реактивы: 1. 10% раствор уксуснокислого кадмия.
2. 0,05 н. раствор йода.
3. Соляная кислота (1 : 9).
4. 0,05 н. раствор тиосульфата натрия (готовится на прокипяченной дистиллированной воде).
5. 0,5% раствор крахмала.

Хлориды

В окрашенных, сильно загрязненных органическими веществами сточных водах определение хлоридов не может быть произведено непосредственно из воды, так как образующийся при титровании осадок хлористого серебра восстанавливается органическим веществом до металлического серебра. В этом случае необходимо предварительно разрушить органические соединения.

Ход определения. При небольшом содержании органических веществ определенный объем сточной воды кипятят с несколькими кристалликами перманганата калия, отфильтровывают выпавшую перекись марганца, удаляют избыток перманганата в фильтрате прибавлением нескольких капель спирта и по охлаждении титруют хлориды азотнокислым серебром (см. ч. 1, стр. 37).

При значительном содержании органических веществ к определенному объему сточной воды прибавляют 10% раствор соды до щелочной реакции по фенолфталеину, выпаривают досуха на водяной бане и прокаливают в муфеле при температуре 400° до полного сжигания органических веществ. Затем растворяют прокаленный остаток в дистиллированной воде, нейтрализуют избы-

ток соды разведенной азотной кислотой (по фенолфталеину) и оттитровывают хлориды азотнокислым серебром.

При содержании хлоридов до 50 *мг/л* для анализа берут 50 — 100 *мл* сточной воды и пользуются 0,01 н. раствором азотнокислого серебра. При анализе сточных вод, содержащих более 50 *мг/л* хлоридов для анализа, берут 25—50 *мл* сточной воды и пользуются 0,1 н. раствором азотнокислого серебра.

Расчет

Содержание хлоридов в сточной воде в *мг/л* рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{aN\,35{,}5 \cdot 1000}{V},$$

где
a — количество *мл* нитрата серебра, ушедшего на титрование;
N — нормальность раствора нитрата серебра;
V — объем сточной воды, взятый для определения.

Роданиды

Принцип определения заключается в том, что роданиды, вступая в реакцию с солями трехвалентного железа, дают окрашенное в красный цвет родановое железо, остающееся в истинном растворе.

Реакция протекает по следующему уравнению:

$$Fe^{3+} + 3CNS^{-} \rightleftarrows Fe(CNS)_3 .$$

В дальнейшем измеряют светопоглощение полученного окрашенного соединения на фотоколориметре или производят визуальное определение путем сравнения окраски с окраской соответствующих стандартных растворов роданистого аммония.

Сильно загрязненные и окрашенные сточные воды необходимо предварительно коагулировать раствором хлористого цинка.

Чувствительность метода составляет 0,2 *мг/л* CNS^{-}, ошибка 3—5%.

Ход определения. В мерную колбу на 200 *мл* вносят 5, 10 или 20 *мл* сточной воды (в зависимости от содержания роданидов), прибавляют 0,5 *мл* насыщенного раствора $ZnSO_4$ или $ZnCl_2$. Если происходит коагуляция, то доводят объем до 200 *мл* дистиллированной водой, тщательно перемешивают и фильтруют 50 *мл* в цилиндр Несслера.

Если коагуляция не наблюдается, то прибавляют от 0,5 до 1,5 *мл* 1% раствора NaOH, доводят до 200 *мл* и также отфильтровывают 50 *мл* в цилиндр Несслера.

Одновременно готовят стандартный раствор, для чего наливают в колбу на 200 *мл* небольшое количество дистиллированной воды, прибавляют 0,5 *мл* насыщенного раствора $ZnSO_4$, от 0,5 до 1,5 *мл* 1% раствора NaOH, доводят объем до 200 *мл* и отфиль-

тровывают 50 *мл* в цилиндр Несслера. Затем к пробе и к стандарту прибавляют 2 *мл* 4 н. раствора HNO_3 и 2 *мл* 5% раствора $FeCl_3$.

К стандартному раствору добавляют определенное количество *мл* рабочего раствора роданистого аммония до уравнивания окраски с окраской испытуемой пробы.

Расчет производится по формуле:

$$X = \frac{n \cdot 0{,}1 \cdot h_{ст} \cdot 200 \cdot 1000}{h_{пр} \cdot V \cdot V_1},$$

где

X — содержание CNS^- в сточной воде в *мг/л*;
n — количество *мл* рабочего раствора NH_4CNS;
V — объем сточной воды, взятой для определения;
V_1 — объем фильтрата, взятый для колориметрирования;
0,1 — содержание CNS^- в *мг* в 1 *мл* рабочего стандартного раствора;
$h_{ст}$ и $h_{пр}$ — высота столбов стандартного раствора и испытуемой пробы соответственно.

При наличии фотоколориметра измеряют оптическую плотность полученного окрашенного соединения в кювете длиной 30 *мм* с синим светофильтром. Концентрацию роданидов рассчитывают по калибровочной кривой, которая представляет в данном случае прямую линию.

Если вода после коагуляции остается окрашенной, то стандарт готовят на сточной воде. В этом случае поступают следующим образом: в две мерные колбы на 200 *мл* наливают определенный объем сточной воды, коагулируют насыщенным раствором $ZnSO_4$, отфильтровывают 50 *мл* в цилиндр Несслера, прибавляют соответствующие количества растворов HNO_3 и $FeCl_3$ и в один из цилиндров, который будет служить стандартом, прибавляют определенный объем рабочего раствора роданистого аммония (C). Затем уравнивают окраски в обоих цилиндрах и производят расчет по формуле:

$$X = \frac{C \cdot h_{ст} \cdot 0{,}1 \cdot 200 \cdot 1000}{(h_{пр} - h_{ст}) \cdot V \cdot V_1},$$

где

X — количество роданидов в *мг/л*;
C — количество *мл* рабочего раствора роданистого аммония, прибавленное к стандартному раствору;
$h_{ст}$ и $h_{пр}$ — соответственно высоты столбов стандартного раствора и испытуемой пробы;
V — объем сточной воды;
V_1 — объем фильтрата, взятый для колориметрирования.

Реактивы: 1. Насыщенный раствор $ZnSO_4$: 35 *г* $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ или 78,6 *г* $ZnCl_2$ растворяют в 100 *мл* дистиллированной воды.
2. 1% раствор NaOH.
3. 4 н. раствор HNO_3.
4. 5% раствор $FeCl_3$.

5. Стандартный раствор NH_4CNS: растворяют 1,31 *г* роданистого аммония в 1 литре воды. В одном миллилитре этого раствора содержится 1 *мг* CNS^-. Разведением этого раствора в 10 раз приготовляют рабочий стандартный раствор: 1 *мл* рабочего стандартного раствора содержит 0,1 *мг* CNS^-.

Цианиды

Определение цианидов в производственных сточных водах осложняется тем, что в них всегда присутствуют мешающие вещества: сульфиды, роданиды, различные органические соединения.

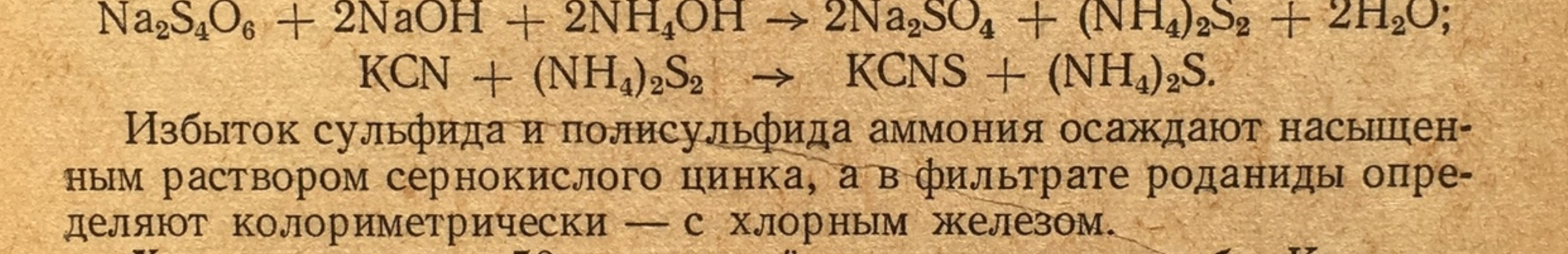
По методу, предложенному Углехимическим институтом и модифицированному нами, цианиды перегоняют из кислой среды в присутствии азотнокислого свинца, который количественно связывает сульфиды и роданиды.

После отгонки цианиды в дистилляте могут быть определены: 1) в виде роданидов; 2) пикратным методом; 3) с барбитуровой кислотой.

а) Определение цианидов в виде роданидов

Цианиды в дистилляте переводят в роданиды при помощи смеси растворов щелочи, тетратионата натрия и аммиака.

При этом происходят следующие реакции:



$$Na_2S_4O_6 + 2NaOH + 2NH_4OH \rightarrow 2Na_2SO_4 + (NH_4)_2S_2 + 2H_2O;$$

$$KCN + (NH_4)_2S_2 \rightarrow KCNS + (NH_4)_2S.$$

Избыток сульфида и полисульфида аммония осаждают насыщенным раствором сернокислого цинка, а в фильтрате роданиды определяют колориметрически — с хлорным железом.

Ход определения. 50 *мл* сточной воды вносят в колбу Кьельдаля, прибавляют 20 *мл* 1 н. раствора азотнокислого свинца, закрывают пробкой, в которую вставлена капельная воронка и насадка Кьельдаля (см. рис. 16). Нейтрализуют пробу 0,1 н. раствором серной кислоты по метилоранжу. Серную кислоту приливают через капельную воронку, когда прибор уже собран. В приемник наливают 15 *мл* 1% раствора щелочи и ведут перегонку до тех пор, пока объем дистиллята не станет равным 75 *мл*.

Отгон доводят до 100 *мл*. К 20 *мл* отгона прибавляют 3 *мл* 0,1 н. раствора NaOH, 3 *мл* раствора тетратионата натрия и 0,3 *мл* раствора аммиака.

Смесь нагревают в течении 5 минут на водяной бане при температуре 50—55°С. По охлаждении прибавляют 0,5 *мл* насыщенного раствора сернокислого цинка и отфильтровывают образовавшийся осадок в мерную колбу на 100 *мл*.

К 50 *мл* фильтрата прибавляют 2 *мл* 4 н. HNO_3, 2 *мл* 5% $FeCl_3$ и через 5 минут колориметрируют со стандартным раствором роданистого аммония, к которому прибавляют все реактивы, и проделывают те же операции, что и с испытуемой пробой.

Чувствительность метода 0,5 *мг/л* CN^-, точность определения 4—6%.

Можно измерять также светопоглощение полученного раствора на фотоколориметре с синим светофильтром (рабочая длина кюветы 30 *мм*).

Содержание цианидов рассчитывают, пользуясь калибровочной кривой, для построения которой измеряют светопоглощение стандартных растворов роданистого аммония с содержанием иона родана: 0,2; 0,4; 0,6; 1,0; 1,5; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 *мг/л*.

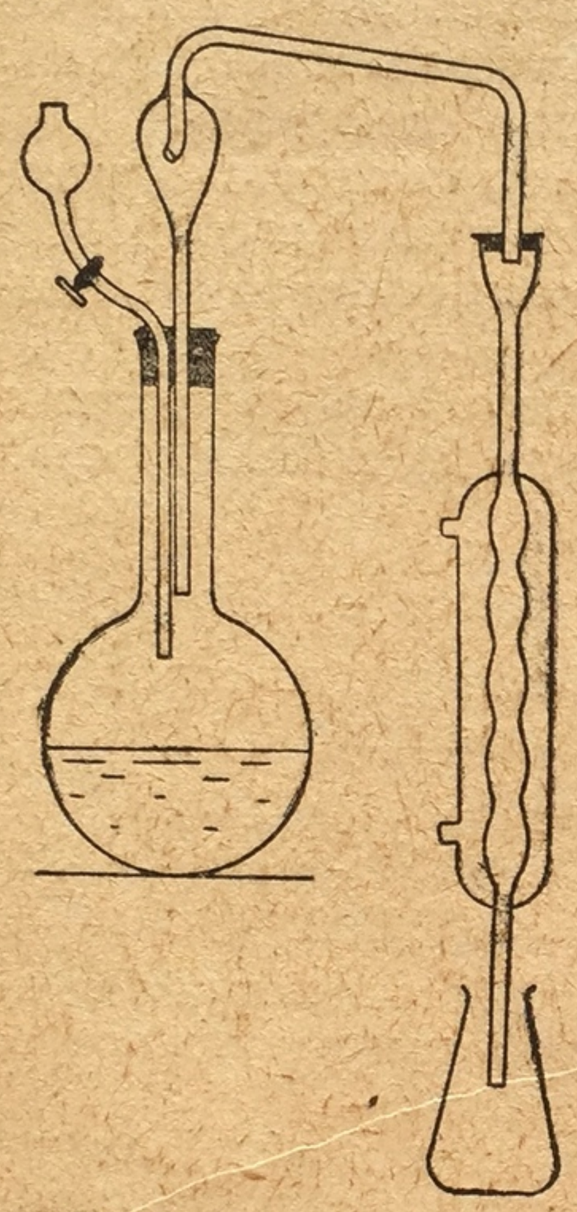


Рис. 16. Прибор для отгона цианидов.

В стандартные растворы вносят те же реактивы, что и в испытуемую пробу, и проделывают те же операции. Калибровочная кривая представляет прямую линию. Для пересчета роданидов в цианиды полученный по калибровочной кривой результат нужно умножить на 0,448.

Приборы. Для отгона цианидов пользуются прибором, который состоит из колбы Кьельдаля, емкостью 600 *мл*; колба закрыта пробкой с двумя отверстиями: в одно входит капельная воронка, в другое — ловушка. Ловушка соединяется с вертикальным шариковым холодильником, конец которого опущен в приемник со щелочью (рис. 16).

Реактивы: 1. 0,1 н. серная кислота.
2. 1 н. раствор азотнокислого свинца.
3. 1% раствор NaOH.
4. Раствор аммиака: приготовляется при смешении 100 *мл* дистиллированной воды с 40 *мл* 25% аммиака.
5. 1% раствор тетратионата натрия.

Тетратионовокислый натрий приготовляют следующим образом: 3,89 *г* тиосульфата натрия и 2 *г* йода тщательно растирают в ступке с небольшим количеством спирта. Затем кашицу переносят на воронку Бюхнера и промывают чистым спиртом до обесцвечивания промывных вод. Осадок просушивают между листами фильтровальной бумаги.

6) 0,1 н. раствор NaOH.
7) 4 н. раствор HNO_3.
8) 5% раствор $FeCl_3$.
9) Насыщенный раствор сернокислого цинка.

б) Пикратный метод определения цианидов

После отгонки цианидов вышеуказанным способом 7,5 *мл* дистиллята вносят в плоскодонную пробирку бесцветного стекла, прибавляют 2 *мл* 1% раствора пикриновой кислоты, 0,5 *мл* 10% раствора соды. Пробирку выдерживают 10 минут на водяной бане при 70—75°. При этом образуется окрашенное в желтый цвет соединение циана с пикриновой кислотой. Окраску этого соединения

колориметрируют со шкалой, приготовленной из растворов хризоидина.

Таблица 17

Шкала для определения цианидов пикратным методом

Количество CN^- в стандартном растворе, γ в 10 *мл*	CN^- в *мг/л*	Для приготовления искусственного стандарта смешивают в *мл*	
		хризоидина	воды
10	1,33	0,5	9,5
30	4,00	1,0	9,0
40	5,32	1,3	8,7
50	6,65	1,7	8,3
60	7,98	2,3	7,7
70	9,31	2,7	7,3
80	10,64	3,5	6,5
100	13,30	4,7	5,3

Реактивы: 1. Исходный раствор хризоидина: 50 *мг* хризоидина растворяю в 50 *мл* спирта и доводят до 200 *мл* дистиллированной водой.

2. 1% раствор пикриновой кислоты.

3. 10% раствор соды.

в) Определение цианидов с барбитуровой кислотой

При малом содержании цианидов в сточной воде (менее 1 *мг/л*) их можно с достаточной степенью точности определить с барбитуровой кислотой. Суть метода заключается в том, что цианид с хлорамином дает вначале хлористый циан, а последний с пиридином и барбитуровой кислотой образует полиметиновый краситель красно-фиолетового цвета.

Окраска устойчива в течение длительного времени. Чувствительность метода составляет 0,005 *мг/л* CN^-, что позволяет определять очень малые количества цианидов в сточных и природных водах.

Данный метод, описанный в литературе для растворов чистых цианидов, был модифицирован нами для производственных сточных вод.

При этом была несколько изменена методика определения и пропись приготовления смешанного реактива.

Ход определения. Определенный объем сточной воды (10—15 *мл*), содержащий не более 0,05 *мг* CN^-, перегоняется согласно вышеописанному методу (см. выше). Полученный щелочный отгон доводят до объема 100 *мл* в мерной колбе.

Затем к 10 *мл* дистиллята прибавляют необходимое для нейтрализации щелочи количество *мл* 0,1 н. HCl, пока pH раствора не станет равным 6. Это количество определяется в отдельной пробе

титрованием 10 *мл* дистиллята 0,1 н. HCl с бромкрезолпурпуром в качестве индикатора.

Объем пробы доводят до 25 *мл*, переносят в сухую колбу с притертой пробкой, прибавляют 1 *мл* 1% раствора хлорамина и через 1 минуту 3 *мл* смешанного реактива, в который входят барбитуровая и соляная кислоты и пиридин.

Оптическую плотность полученного окрашенного соединения, представляющего собой дибарбитурат глютаконового альдегида, через 8 минут определяют на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кювете рабочей длиной 50 *мм*. В этом случае содержание цианидов в пробе рассчитывают по калибровочной кривой. Калибровочная кривая представляет прямую линию, проходящую через начало координат. Наибольшая концентрация цианидов, определяемая по этой кривой (без разведения), составляет 0,2 *мг/л*, минимальная — 0,005 *мг/л*. Для построения калибровочной кривой приготовляют серию стандартных растворов с концентрацией CN^- 0,005—0,2 *мг/л*. Основным раствором служит раствор цианида калия с концентрацией циан — иона 50 *мг/л*. Разведением этого раствора в 10 раз приготовляют рабочий раствор с концентрацией CN^- 5 *мг/л*.

При отсутствии фотоколориметра полученную окраску сравнивают с окраской серии стандартных растворов цианидов с концентрацией 0,01—0,2 *мг/л*, к которым прибавляют те же реактивы, что и к испытуемой пробе. Содержание циан-иона в испытуемой пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot h_{ст} \cdot 100}{h_{пр} \cdot V},$$

где

X — содержание CN^- в сточной воде в *мг/л*;

a — содержание CN^- в *мг/л* в стандартном растворе, взятом для сравнения;

$h_{ст}$ и $h_{пр}$ — высота столбов стандартного раствора и испытуемой пробы; 100 — объем отгона;

V — объем сточной воды, взятой для перегонки.

Реактивы: 1. 0,1 н. HCl.

2. 1% раствор хлорамина.

3. Смешанный реактив: 1 *г* барбитуровой кислоты взвешивают в мерной колбе на 50 *мл*, смачивают небольшим количеством воды, приливают 5 *мл* чистого пиридина, разбавляют водой и перемешивают до полного растворения. Затем прибавляют 1 *мл* концентрированной соляной кислоты и доводят до метки при охлаждении. Смешанный реактив должен быть практически бесцветным и свежеприготовленным.

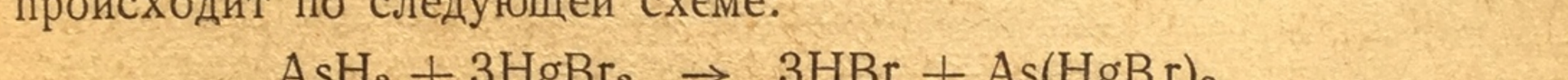
4. 0,04% раствор бромкрезолпурпура: 0,4 *г* бромкрезолпурпура растирают в агатовой ступке с 7,4 *мл* 0,1 н. NaOH до полного растворения. Содержимое ступки смывают в литровую мерную колбу, доводят до метки и фильтруют.

Мышьяк

Мышьяк содержится во многих типах производственных сточных вод: металлургической промышленности, текстильной и т. д.

Кроме того, он попадает в сточные воды тех производств, где осуществляется мокрая сероочистка коксового газа.

Принцип определения заключается в восстановлении соединений мышьяка до мышьяковистого водорода, который окрашивает бумагу, пропитанную спиртовым раствором бромида ртути в желтый цвет. Образование комплексного соединения мышьяка с бромидом ртути происходит по следующей схеме:



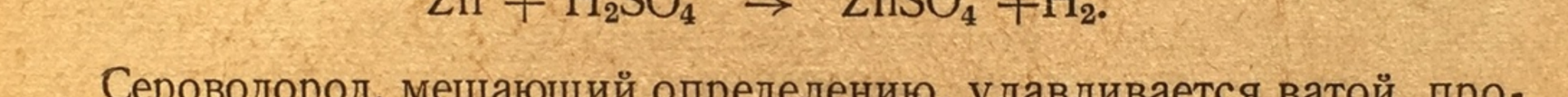
$$AsH_3 + 3HgBr_2 \rightarrow 3HBr + As(HgBr)_3.$$

Полученное соединение (в отличие от аналогичного соединения сурьмы) не растворимо в 80% спирте, что позволяет определять мышьяк данным методом в присутствии сурьмы.

Для разрушения органических соединений мышьяка, которые могут присутствовать в производственных сточных водах, испытуемую сточную воду предварительно окисляют бромной водой. При этом мышьяк окисляется до мышьяковой кислоты (H_3AsO_4).

Для восстановления мышьяковой кислоты в мышьяковистую (H_3AsO_3) служит хлористое олово.

Восстановление мышьяковистой кислоты до мышьяковистого водорода AsH_3 производят водородом, образующимся в момент выделения при взаимодействии цинка с серной кислотой по реакции:



$$Zn + H_2SO_4 \rightarrow ZnSO_4 + H_2.$$

Сероводород, мешающий определению, улавливается ватой, пропитанной раствором уксуснокислого свинца.

Чувствительность метода 0,001 *мг*.

Ход определения. Определенный объем сточной воды от 1 до 10 *мл*, содержащий от 0,001 до 0,01 *мг* мышьяка, помещают в коническую колбу на 100 *мл*, добавляют 20 *мл* дистиллированной воды и несколько *мл* бромной воды до ясно желтой окраски. Кипятят несколько минут на электрической плитке. Избыток брома удаляется при кипячении (до полного обесцвечивания пробы). После охлаждения к пробе приливают 25 *мл* серной кислоты (1 : 4), доводят объем дистиллированной водой до 50 *мл*, прибавляют 1 *мл* 10% раствора хлорида олова и всыпают 5 *г* гранулированного цинка, не содержащего мышьяка.

Колбу быстро закрывают пробкой с насадкой для улавливания мышьяковистого водорода.

Между отшлифованными краями трубок насадки предварительно вкладывается кружок фильтровальной бумаги, пропитанной спиртовым раствором бромида ртути.

В нижней части трубки 3 (рис. 17) помещается вата (предварительно смоченная раствором уксуснокислого свинца и высушенная), предназначенная для улавливания сероводорода.

Дают раствору постоять 1 час при комнатной температуре, изредка встряхивают колбу. Через час разбирают прибор и сравнивают полученное на реактивной бумаге пятно с шкалой пятен,

приготовленной предварительно путем восстановления в указанных условиях растворов мышьяка с содержанием последнего от 0,001 *мг* до 0,01 *мг* в объеме, взятом для определения.

Прибор для определения мышьяка состоит из конической колбы емкостью 100 *мл* и насадки, вставленной в колбу посредством резиновой пробки. Насадка состоит из трубки 3 (см. рис. 17) диаметром 16 *мм* и высотой 110 *мм*. В середине этой трубки на высоте 50 *мм* впаяна другая трубка — 4 — диаметром 10 *мм*, длиной 25 *мм*.

Верхний конец внутренней трубки отшлифован. В нижней части трубки 3 помещается вата, смоченная раствором уксуснокислого свинца для поглощения сероводорода. Отверстие трубки 4 покрывают диском из фильтровальной бумаги и резиновой прокладкой с отверстием диаметром 10 *мм*. Прокладка плотно прижимается к трубке 4 трубкой 6, нижний конец которой также отшлифован. Диаметр трубки 6 должен точно соответствовать диаметру трубки 4. Длина трубки 6 составляет 100 *мм*. Она вставляется в трубку 3 посредством резиновой пробки.

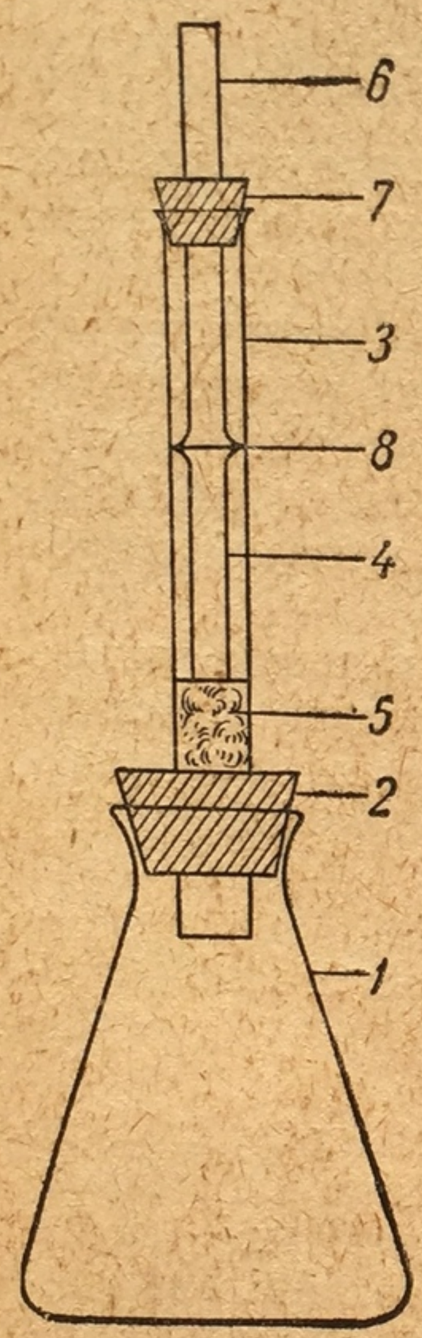


Рис. 17. Прибор для определения мышьяка:

1 — коническая колба; *2, 7* — резиновые пробки; *3, 4, 6* — стеклянные трубки; *5* — вата; *8* — фильтр.

Реактивы: 1. Реактивная бумага: беззольную фильтровальную бумагу просушивают при 105° в течение 1 часа, охлаждают в эксикаторе и погружают на 40 минут в 5% спиртовый раствор бромида ртути. Пропитанную реактивом бумагу извлекают пинцетом и сушат на воздухе. Вырезают диски диаметром 15 *мм*, которые хранят в банке из темного стекла.

2. Серная кислота (1 : 4).

3. 10% раствор хлорида двухвалентного олова в разбавленной (1 : 9) соляной кислоте: растворяют 10 *г* двухлористого олова в 90 *мл* соляной кислоты (1 : 9).

4. 4% раствор уксуснокислого свинца в 2% уксусной кислоте: растворяют 4 *г* уксуснокислого свинца в 96 *мл* 2% уксусной кислоты.

5. Цинк гранулированный, не содержащий мышьяка.

6. Стандартные растворы арсенита натрия: растворяют 1,32 *г* трехокиси мышьяка в 20 *мл* 2% раствора едкого натра и доводят объем дистиллированной водой до литра. В 1 *мл* раствора содержится 1 *мг* мышьяка (раствор А).

Для приготовления рабочего раствора основной стандартный раствор (А) разводят в 100 раз, для чего 10 *мл* стандартного раствора вносят в мерную колбу и доводят дистиллированной водой объем до литра.

В одном *мл* рабочего раствора (Б) содержится 0,01 *мг* мышьяка.

Разведением рабочего раствора (Б) в 10 раз получают раствор (В), в 1 *мл* которого содержится 0,001 *мг* мышьяка.

Для приготовления шкалы стандартных пятен вносят в колбу прибора 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 8; 10 и 12 *мл* раствора В, соответственно доводят объем до 20 *мл* дистиллированной водой и

производят все вышеуказанные операции. Получают серию пятен от светло-желтого до бурого цвета, которые наклеивают на белую бумагу или срисовывают акварельными красками. Содержание мышьяка в сточной воде в *мг/л* рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 1000}{V},$$

где

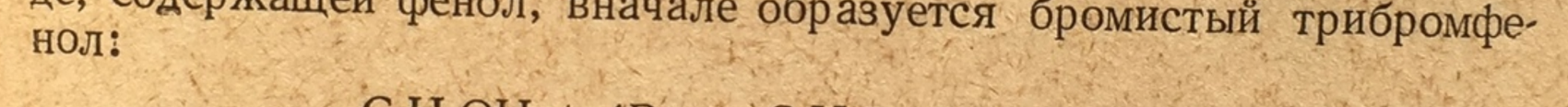
a — количество мышьяка в *мг* в той бумажке шкалы, цвет которой оказался близким к цвету пятна, полученного при анализе пробы.

V — объем воды, взятой для анализа, в *мл*.

Фенолы

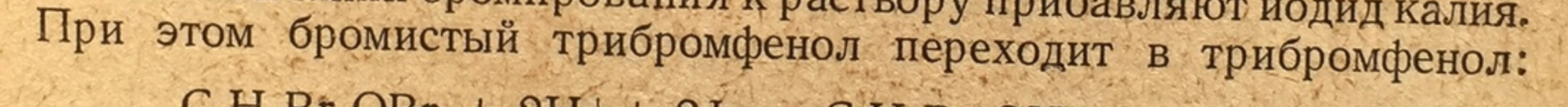
Летучие фенолы имеются в сточных водах от пирогенного разложения топлива, анилино-красочной промышленности и других видов химической промышленности. К ним относятся простейшие одноатомные фенолы: фенол, орто-, мета- и пара-крезолы, ксиленолы и некоторые другие. Если концентрация фенолов в сточных водах превышает 30 *мг/л*, их определяют объемным методом, при меньших концентрациях — колориметрическим методом.

Определение фенолов объемным методом заключается в бромировании их прибавляемым в избытке бромом и определении избытка брома йодометрическим титрованием. При прибавлении брома к воде, содержащей фенол, вначале образуется бромистый тribромфенол:



$$C_6H_5OH + 4Br_2 \rightarrow C_6H_2Br_3OBr + 4HBr.$$

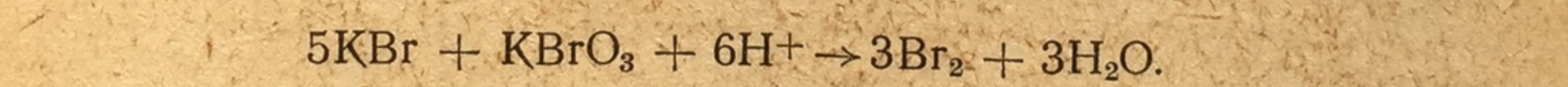
По окончании бромирования к раствору прибавляют йодид калия. При этом бромистый тribромфенол переходит в тribромфенол:



$$C_6H_2Br_3OBr + 2H^+ + 2J^- \rightarrow C_6H_2Br_3OH + J_2 + HBr.$$

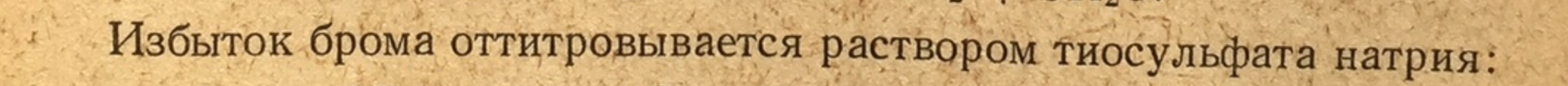
Таким образом, в результате этих двух реакций каждая молекула фенола связывает 6 эквивалентов брома, и поэтому эквивалент фенола в данной реакции будет равен $^1/_6$ его молекулярного веса: $\frac{94}{6} = 15{,}66$.

Донором брома является смесь растворов бромида и бромата калия, при подкислении которой выделяется бром по следующей схеме:



$$5KBr + KBrO_3 + 6H^+ \rightarrow 3Br_2 + 3H_2O.$$

Избыток брома оттитровывается раствором тиосульфата натрия:



$$Br_2 + 2KJ + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaJ + 2KBr.$$

Для проведения определения необходимо прежде всего отогнать фенол из сточной воды, поскольку в ней имеются и другие

бромирующиеся соединения. С этой целью определенный объем сточной воды 10—50 *мл* (в зависимости от содержания фенолов) помещают в колбу Вюрца, подкисляют серной кислотой (1 : 3) по метилоранжу, прибавляют 10 *мл* 10% раствора $CuSO_4$ (для связывания сероводорода и сульфидов) и отгоняют с водяным паром. Полноту отгона проверяют диазотированным паранитроанилином или 4-аминоантипирином (см. ниже). Отгон в зависимости от его количества доводится до определенного объема (250, 500 или 1000 *мл*).

а) Определение фенолов йодометрическим методом

50 *мл* из отгона помещают в коническую колбу с притертой пробкой емкостью 250 *мл*, прибавляют 20—30 *мл* 0,01 н. раствора бромид-бромата калия, 10 *мл* серной кислоты (1 : 3) и оставляют на 30—40 минут в темном месте. Параллельно проделывают контрольный опыт, для чего в другую колбу наливают 50 *мл* дистиллированной воды и прибавляют то же количество реактивов, что и к испытуемой пробе.

Если по истечении 5 минут не наблюдается пожелтение испытуемой пробы, то, следовательно, бромид-бромата было прибавлено недостаточно, и опыт повторяют с прибавлением большего количества бромид-броматной смеси.

После окончания бромирования в испытуемую и контрольную пробу прибавляют по 1 *г* KJ (сухого) и через 5 минут титруют выделившийся йод 0,05 н. раствором $Na_2S_2O_3$.

Расчет ведут по формуле:

$$X = \frac{a \cdot N \cdot V \cdot 1000 \cdot 15{,}66}{b \quad c},$$

где

X — концентрация фенолов в сточной воде в *мг/л*.
N — нормальность раствора тиосульфата натрия,
a — разница между количествами *мл* тиосульфата натрия, ушедшего на титрование контрольной и испытуемой проб в *мл*;
V — объем отгона в *мл*;
b — объем отгона взятый для бромирования;
c — объем сточной воды, взятой для перегонки;
15,66 — эквивалент фенола в данной реакции.

Реактивы: 1. 0,01 н. раствор бромид-бромата калия: 0,9917 *г* KBr и 0,2783 *г* $KBrO_3$ растворяют в дистиллированной воде и доводят объем раствора до 1 литра.
2. 0,05 н. раствор тиосульфата натрия.
3. Химически чистый йодистый калий.
4. Серная кислота (1 : 3).
5. 0,5% раствор крахмала.
6. 10% раствор $CuSO_4$.

б) *Колориметрическое определение с паранитроанилином*

Перегонка производится согласно вышеуказанному методу. Затем к 50 *мл* отгона прибавляют 30 *мл* 1 н. раствора Na_2CO_3.

Далее приготовляют диазотированный паранитроанилин, для чего к 20 *мл* раствора паранитроанилина прибавляют по каплям 2% раствор $NaNO_2$ до обесцвечивания. Полученный диазотированный паранитроанилин прибавляют к смеси 50 *мл* отгона и соды. Оранжевую окраску колориметрируют в цилиндрах с соответствующим стандартным раствором фенола.

Для приготовления последнего в ряд мерных колб емкостью 50 *мл* вносят 0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10 и 20 *мл* рабочего стандартного раствора, содержащего в 1 *мл* 0,01 *мг* фенола. Получают растворы с концентрацией фенола 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,2; 1,6; 2 и 4 *мг/л*.

Можно также измерить светопоглощение окрашенного раствора на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кювете длиной 50 *мм*. В этом случае содержание фенолов рассчитывают по калибровочной кривой, которая имеет форму параболы (принцип построения калибровочной кривой см на стр. 80).

Минимальное количество фенола, определяемое данным методом, составляет 0,1 *мг/л*, максимальное — 4 *мг/л*.

Реактивы: 1. Раствор паранитроанилина: 0,69 *г* реактива растворяют в 65 *мл* 1 н. соляной кислоты и разбавляют дистиллированной водой до литра.

2. 1 н. Na_2CO_3.

3. 2% раствор нитрита натрия.

4. Стандартный раствор фенола: растворяют 1 *г* сублимированного фенола в небольшом количестве дистиллированной воды и доводят объем до литра. В одном *мл* этого раствора содержится 1 *мг* фенола.

5. Рабочий стандартный раствор фенола приготовляется разведением основного стандартного раствора в 100 раз. В 1 *мл* этого раствора содержится 0,01 *мг* фенола.

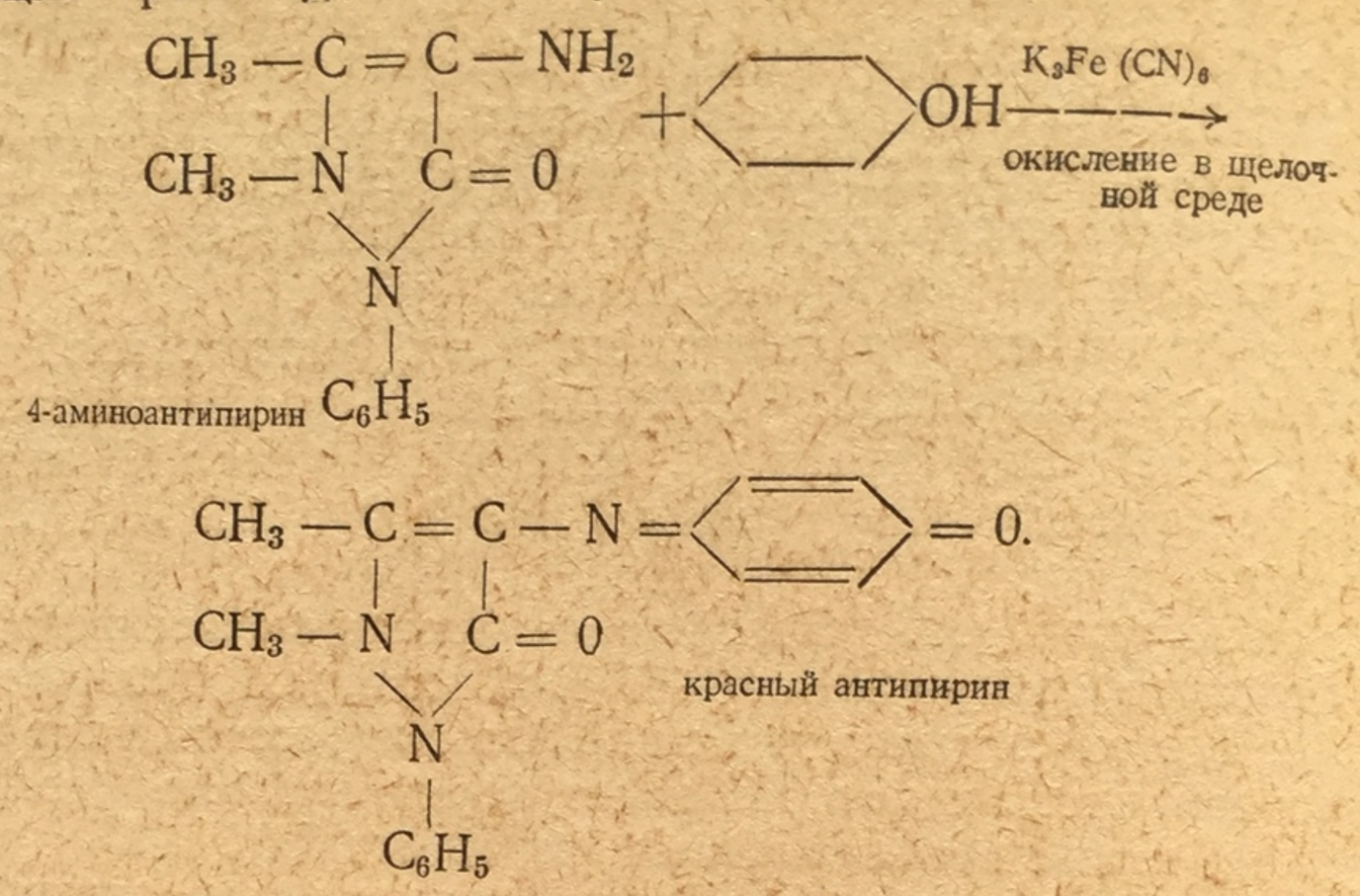
в) Колориметрическое определение с 4-аминоантипирином

Определение фенола с диазотированным паранитроанилином не является специфичным, так как в производственных сточных водах могут сочетаться с диазосоединениями не только амины, фенолы, но и эфиры фенолов, а также многие ненасыщенные углеводороды жирного и ароматического ряда.

Таким образом, даже при предварительной отгонке фенолов из кислой среды определение их методом диазотирования может давать завышенные результаты. Определение становится совсем ненадежным в тех случаях, когда содержание фенолов в сточных водах значительно меньше, чем других органических соединений (например, в сточных водах, выходящих из обесфеноливающих установок, и т. д.).

В настоящее время за рубежом и в нашей стране применяется новый метод определения фенолов с 4-аминоантипирином. Он основан на том, что фенол и его гомологи в щелочной среде в присутствии окислителя образуют окрашенное соединение с 4-аминоантипирином, так называемый красный антипирин.

Реакция происходит по следующей схеме:



Реакция эта специфична для фенолов, и поэтому данный метод может дать представление об истинном содержании фенола в сточных водах и в воде водоема.

Ход определения. Перегонка производится согласно вышеуказанному методу. К 50 *мл* дистиллята прибавляют 1 *мл* 2 н. NH_4OH, 0,5 *мл* 2% раствора 4-аминоантипирина и 1 *мл* 2% раствора красной кровяной соли.

Оставляют на 20 минут в темном месте и измеряют светопоглощение окрашенного раствора на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кювете длиной 30 *мм*. Калибровочная кривая представляет собой прямую линию, проходящую через начало координат.

Наименьшая определимая концентрация фенола по этой кривой составляет 0,1 *мг/л*, максимальная — 3 *мг/л*. При отсутствии фотоколориметра сравнение производят с серией стандартных растворов фенола с концентрацией от 0,04 *мг/л* до 4 *мг/л*.

Реактивы: 1. 2% водный раствор 4-аминоантипирина (годен 10 дней).
2. 2 н. раствор NH_4OH.
3. 2% раствор красной кровяной соли (свежеприготовленный).

г) Колориметрическое определение с пирамидоном

Для определения малых количеств фенола в воде, менее 0,5 *мг/л*, в настоящее время предложен метод, основанный на реакции его с диметиламиноантипирином (пирамидоном). Продукт реакции окисляется красной кровяной солью в щелочной среде и образует окрашенное в оранжевый цвет соединение, аналогичное продукту реакции фенолов с 4-аминоантипирином в тех же условиях.

Измеряют светопоглощение полученного окрашенного продукта после экстрагирования его из воды смесью хлороформа и изоамилового спирта.

Чувствительность метода 0,005—0,01 *мг/л* фенола.

Замена дефицитного 4-аминоантипирина пирамидоном позволяет рекомендовать его работникам коммунальных лабораторий санстанций. Высокая чувствительность определения может обеспечить необходимый контроль за содержанием фенолов в воде водоема.

Ход определения. Вначале производится отгон фенола из испытуемой пробы воды. 100 *мл* воды помещают в колбу Вюрца, прибавляют 4 *мл* серной кислоты (1 : 3), 1 *мл* 10% $CuSO_4$ и отгоняют с водяным паром, пока объем дистиллята не станет равен 100 *мл*.

Отгон помещают в делительную воронку емкостью 250 *мл*, прибавляют 5 *мл* буферного раствора, перемешивают, вносят 0,5 *мл* раствора пирамидона и 5 *мл* раствора красной кровяной соли.

Через 30 минут после прибавления реактивов в делительную воронку вносят 8 *мл* экстракционной смеси и встряхивают в течение 2 минут.

Окрашенный слой экстракта отделяют, профильтровывают через бумажный фильтр и измеряют оптическую плотность на фотоколориметре с синим светофильтром в кювете длиной 10 *мм* против экстракта, полученного в тех же условиях из дистиллированной воды.

Концентрацию фенола рассчитывают по калибровочной кривой, построенной по оптическим плотностям экстрактов стандартных растворов. Нулевым раствором служит экстракт, полученный в тех же условиях из дистиллированной воды.

При отсутствии фотоколориметра производят полуколичественное определение, сравнивая окраску нижнего слоя экстракта в делительной воронке с испытуемой пробой с окраской этого слоя в серии стандартных растворов фенола с концентрацией от 0,005 *мг/л* до 0,5 *мг/л*.

Реактивы: 1. Спиртовый раствор пирамидона: растворяют 7 *г* химически чистого порошкообразного пирамидона в 100 *мл* этилового спирта. Раствор годен к употреблению в течение месяца.

2. 30% раствор красной кровяной соли: годен к употреблению в течение месяца.

3. Буферная смесь: 50 *г* химически чистого NH_4Cl растворяют в 900 *мл* дистиллированной воды, прибавляют 4 *мл* концентрированного аммиака и объем доводят до 1 литра.

4. Экстракционная смесь: 100 *мл* хлороформа смешивают с 200 *мл* изоамилового спирта.

5. 10% раствор $CuSO_4$.

6. Серная кислота (1 : 3).

7. Стандартные растворы фенола:

а) основной стандартный раствор с содержанием фенола 1 *г/л;*

б) рабочий стандартный раствор с содержанием фенола 10 *мг/л*. Готовится путем разведения раствора «а» в 100 раз;

в) рабочий стандартный раствор с содержанием фенола 1 *мг/л*. Готовится разведением раствора «б» в 10 раз.

Серия стандартных растворов фенола для колориметрирования приготовляется соответствующим разведением раствора «в» согласно табл. 18.

Таблица 18

Концентрация фенола в *мг/л*	Количество *мл*	
	раствора «в»	Дистиллированной воды
0,001	0,1	99,9
0,005	0,5	99,5
0,050	5,0	95,0
0,100	10,0	90,0
0,200	20,0	80,0
0,300	30,0	70,0
0,400	40,0	60,0
0,500	50,0	50,0

Пиридиновые основания

Пиридин и его производные обычно определялись в сточных водах колориметрическим методом, основанным на реакции их с бромистым цианом и анилином. К недостаткам этого метода относится применение очень ядовитого бромистого циана и неустойчивость окраски образующегося дианила глютаконового альдегида.

В иностранной литературе описан метод колориметрического определения пиридина, основанный на реакции его с барбитуровой кислотой и хлористым цианом. При этом образуется очень устойчивый полиметиновый краситель красно-фиолетового цвета. Хлористый циан получается в процессе определения из цианида и хлорамина.

Данный метод был модифицирован нами и применен для определения пиридина в производственных сточных водах.

Ход определения. 5—10 *мл* сточной воды (в зависимости от содержания пиридина) вносят в колбу Вюрца, приливают 100 *мл* дистиллированной воды и 5 *мл* 10% раствора едкого натра. Отгоняют $^3/_4$ содержимого в приемник, закрытый ватой. Дистиллят доводят до объема 100 *мл*. Затем в сухую колбу с притертой пробкой наливают последовательно 2 *мл* 0,1 н. HCl, 1 *мл* 1% раствора цианида калия, 5 *мл* 1% раствора хлорамина и 5 *мл* дистиллята. После перемешивания смесь оставляют закрытой на 5 минут, затем прибавляют 10 *мл* 1% раствора барбитуровой кислоты и через 30 минут колориметрируют с соответствующим стандартным раствором или измеряют оптическую плотность окрашенного соединения на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кювете длиной 50 *мм*. В этом случае концентрацию пиридина находят по калибровочной кривой.

Если окраска получается слишком густой, то полученный отгон разводят в определенное количество раз и повторяют определение в стандартных условиях.

Чувствительность метода 0,05 *мг/л*.

Для построения калибровочной кривой (а также для визуального колориметрирования) приготовляется серия стандартных растворов пиридина с концентрацией от 0,05 до 3 *мг/л*. Исходным раствором служит рабочий раствор пиридина с концентрацией 10 *мг/л*. 1 *мл* этого раствора содержит 0,01 *мг* пиридина. Калибровочная кривая представляет собой гиперболу с начальным прямолинейным участком.

При большом содержании пиридина в производственных сточных водах определение производится объемным методом.

В этом случае перегонка выполняется согласно вышеуказанному, а полученный отгон оттитровывают 0,05 н. серной кислотой с бромфенолсиним в качестве индикатора до перехода окраски из синей в желтую. Количество пиридина определяют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot N \cdot 1000 \cdot 79}{V},$$

где

X — содержание пиридина в сточной воде в *мг/л*;
a — количество *мл* серной кислоты, ушедшее на титрование;
79 — эквивалент пиридина;
V — объем сточной воды, взятой для перегонки;
N — нормальность раствора серной кислоты.

Реактивы: 1. Стандартный раствор пиридина. Взвешивают в бюксе 1 *г* пиридина, перегнанного при 114—116°, переносят количественно в мерную колбу на литр и доводят водой до метки. Концентрация пиридина в этом растворе устанавливается объемным методом (титрование 0,05 н. серной кислотой с бромфенолсиним в качестве индикатора).

Из этого раствора разведением в 100 раз приготовляется рабочий раствор пиридина с концентрацией 10 *мг/л*.

2. 0,1 н HCl.
3. 1% раствор цианида калия.
4. 1% раствор хлорамина.
5. 1% раствор барбитуровой кислоты: 1 *г* барбитуровой кислоты растворяют в 100 *мл* воды (на холоду).

Раствор приготовляется ежедневно, поскольку барбитуровая кислота плохо растворяется в холодной воде и при стоянии выкристаллизовывается.

6. 10% раствор едкого натра.
7. 0,05 н. серная кислота.
8. Раствор бромфенолсинего: 25 *мг* индикатора в виде натриевой соли растворяют в 25 *мл* воды.

Если индикатор имеется в форме кислоты, то 25 *мг* его растирают в ступке с 0,5 *мл* спирта или 0,75 *мл* 0,05 н. раствора NaOH и разбавляют до 25 *мл* дистиллированной водой. Сохраняют в темной склянке.

Летучие жирные кислоты

К летучим жирным кислотам относятся муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная, валериановая и капроновая кислоты. Из них чаще всего в производственных сточных водах присутствует уксусная кислота.

Прямая перегонка летучих жирных кислот не может быть применена в сточных водах, содержащих хлориды и роданиды, так как по мере уменьшения объема перегонной смеси концентрация Cl^- и CNS^- ионов увеличивается, и они начинают интенсивно перегоняться.

Нами предложено летучие жирные кислоты определять методом перегонки с водяным паром, преимущество которого заключается в том, что объем перегонной смеси остается все время постоянным, и поэтому исключается возможность попадания в отгон соляной кислоты и др. летучих минеральных кислот и устраняется гидролиз комплексных органических соединений.

Ход определения. 10—50 *мл* сточной воды (в зависимости от содержания в ней летучих жирных кислот), вносят в перегонную колбу, прибавляют, если нужно, дистиллированной воды до объема 50 *мл* и 20 *мл* серной кислоты (1 : 3).

В парообразователь наливают дистиллированную воду, вносят несколько кусочков пемзы и нагревают до кипения. Содержимое колбы Вюрца к этому моменту тоже должно быть нагрето почти до кипения. В этом случае исключается конденсация пара в перегонной колбе, и объем смеси остается практически постоянным. Затем ведут перегонку с паром (при этом нагревание перегонной колбы прекращают) до полного отгона летучих жирных кислот. При содержании в производственных сточных водах менее 6 *г/л* летучих жирных кислот необходимое количество отгона составляет 600 *мл*, от 6 до 12 *г/л* — 600-800 *мл*, свыше 12 *г/л* — 900 *мл*.

Полученный дистиллят кипятят полчаса с обратным холодильником для удаления углекислого газа, H_2S, SO_2, слегка охлаждают и титруют 0,1 н. раствором едкого натра в присутствии фенолфталеина до неисчезающей слаборозовой окраски. Параллельно проделывают контрольный опыт, для чего помещают в перегонную колбу 50 *мл* дистиллированной воды, прибавляют 20 *мл* серной кислоты (1 : 3) и отгоняют с паром 600 *мл* дистиллята. Далее кипятят дистиллят 0,5 часа с обратным холодильником и оттитровывают 0,1 н. раствором NaOH.

На титрование летучих кислот, содержащихся в серной кислоте, обычно уходит 0,45—0,5 *мл* 0,1 н. NaOH.

Это количество в дальнейшем всегда отнимают от результатов титрования.

В случае невозможности определения летучих жирных кислот на месте консервируют пробу путем прибавления к 100 *мл* фильтрованной сточной воды 3—4 *мл* 40% NaOH.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{n \cdot N \cdot 1000 \cdot 60}{V},$$

где

X — количество летучих жирных кислот в сточной воде в *мг/л* (в пересчете на уксусную кислоту);

п — разность между количеством *мл* щелочи, ушедшей на титрование испытуемой и контрольной пробы;
V — объем сточной воды, взятой для перегонки;
60 — эквивалент уксусной кислоты;
N — нормальность раствора NaOH.

Прибор для отгонки летучих жирных кислот состоит из парообразователя, перегонной колбы Вюрца емкостью 0,5 *л*, холодиль-

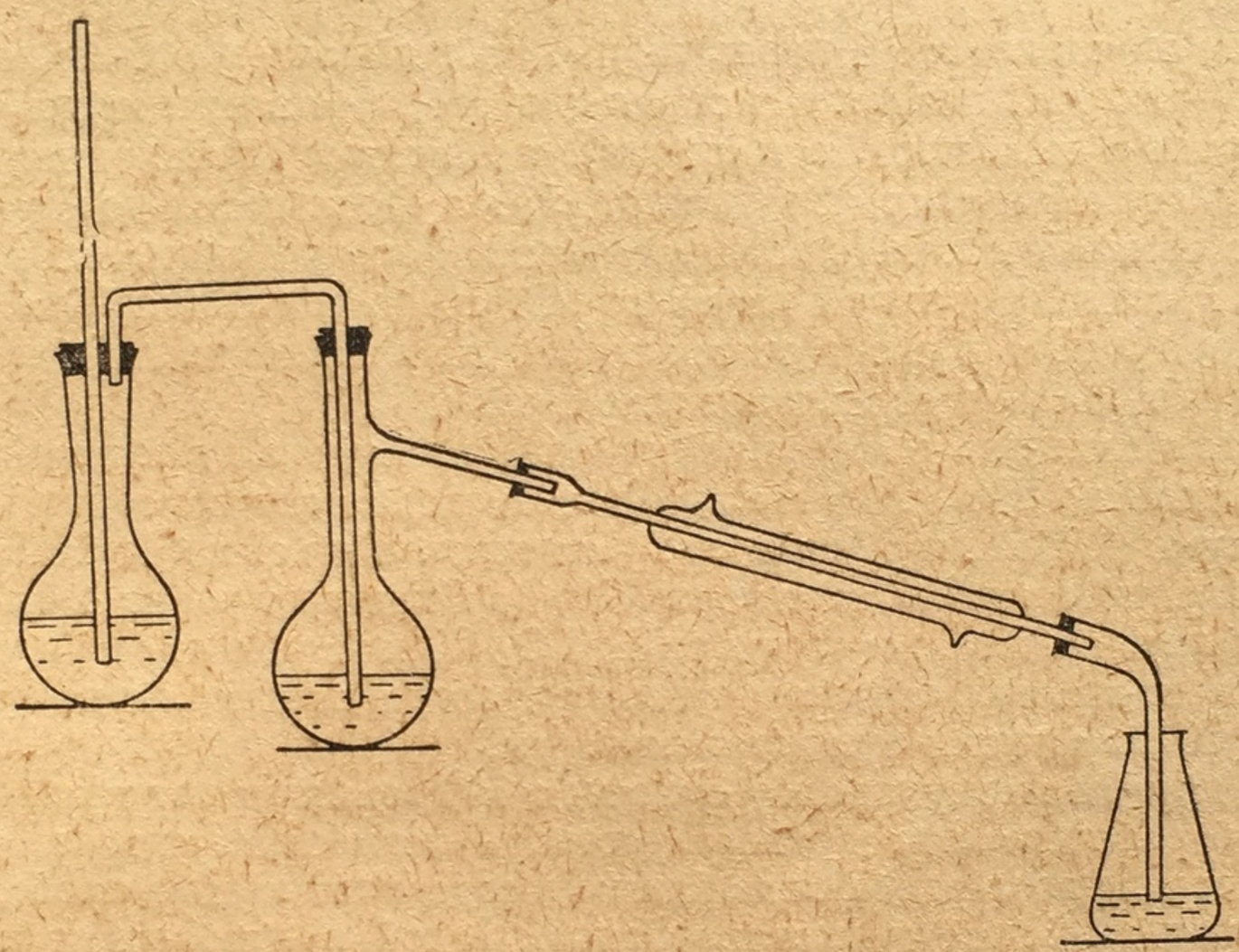


Рис. 18. Прибор для отгона летучих жирных кислот.

ника и приемника (рис. 18). Колба Вюрца закрыта пробкой, в которую вставлена трубка, доходящая до дна колбы и соединенная с парообразователем. Отводная трубка перегонной колбы присоединяется к холодильнику. На конец холодильника надевается алонж. В приемник наливается небольшое количество воды так чтобы конец алонжа был погружен в нее.

Реактивы: 1. Серная кислота (1 : 3).
2. 0,1 н. NaOH.
3. 40% раствор NaOH.
4. 1% спиртовый раствор фенолфталеина.

Метиловый спирт

Принцип определения метилового спирта в производственных сточных водах заключается в отгоне последнего из сточной воды и окислении перманганатом калия до формальдегида. Формальдегид в дальнейшем определяется в дистилляте колориметрически с фуксин-сернистой кислотой.

Чтобы реакция окисления не пошла дальше формальдегида, в исследуемую пробу вводят значительное количество этилового спирта.

В сильно загрязненных сточных водах производят две перегонки: в щелочной и кислой среде. Таким образом, отделяют метиловый спирт от фенолов, органических кислот, аминов, пиридиновых оснований и других соединений, мешающих определению.

Ход определения. В перегонную колбу емкостью 500 *мл* помещают 50—200 *мл* анализируемой сточной воды (в зависимости от содержания в ней метилового спирта), подкисляют 10 *мл* концентрированной серной кислоты и отгоняют 150 *мл*. В приемник до начала отгонки наливают 20 *мл* дистиллированной воды. Дистиллят разбавляют дистиллированной водой до 200 *мл*, прибавляют 20 *мл* 50% раствора NaOH и снова отгоняют 150 *мл* в приемник, куда также наливают 20 *мл* дистиллированной воды.

Дистиллят после вторичной отгонки разбавляют дистиллированной водой до 200 *мл*. 5 *мл* дистиллята переносят в мерную колбу емкостью 100 *мл*, прибавляют 20 *мл* воды, 5 *мл* смеси H_2SO_4 с этиловым спиртом и 5 *мл* раствора $KMnO_4$. Окисляют ровно 2 минуты, затем приливают 5 *мл* раствора $H_2C_2O_4$. Как только окраска станет оранжево-желтой, приливают 1 *мл* концентрированной серной кислоты и 10 *мл* фуксин-сернистой кислоты.

В другую мерную колбу емкостью 100 *мл* наливают такое количество рабочего стандартного раствора метилового спирта, чтобы содержание последнего было близко к содержанию его в пробе, разбавляют до 25 *мл* дистиллированной водой и прибавляют те же реактивы.

Через час доводят содержимое в обеих колбах до меток, хорошо перемешивают и сравнивают фиолетовую окраску анализируемого раствора с окраской стандартного раствора в колориметрических цилиндрах. Окраска, образуемая высшими альдегидами, к этому времени исчезает.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{h_{ст} \cdot n \cdot a \cdot 1000 \cdot V_1}{h_{пр} \cdot V \cdot V_2},$$

где

X — содержание метилового спирта в сточной воде в *мг/л*;

n — количество *мл* рабочего стандартного раствора, взятого для сравнения;

a — содержание метилового спирта в 1 *мл* рабочего стандартного раствора;

$h_{ст}$ и $h_{пр}$ — высоты столбов стандартного раствора и испытуемой пробы;

V — объем сточной воды, взятой для перегонки;

V_1 — объем отгона;

V_2 — объем отгона, взятый для колориметрирования.

Минимальное количество метилового спирта, определяемого этим методом, составляет 5 *мг/л*.

Реактивы: 1. 5% раствор перманганата калия.

2. 8% раствор щавелевой кислоты.

3. Смесь серной кислоты с этиловым спиртом: к 100 *мл* дистиллированной воды прибавляют 40 *мл* концентрированной серной кислоты, перемешивают, прибавляют 21 *мл* 96% этилового спирта и разбавляют до 200 *мл*.

4. 50% раствор NaOH.

5. Концентрированная серная кислота, уд. вес 1,84.

6. Основной стандартный раствор метилового спирта: 10 *г* метилового спирта растворяют в дистиллированной воде, свободной от углекислоты, и разбавляют той же водой до литра.

7. Рабочий стандартный раствор метилового спирта приготовляется разведением запасного раствора в 10 раз. В 1 *мл* полученного раствора содержится 1 *мг* метилового спирта.

8. Фуксин-сернистая кислота: 0,5 *г* фуксина растворяют при нагревании в 250 *мл* прокипяченной дистиллированной воды. Раствор охлаждают, прибавляют 27,2 *г* бисульфита натрия, растворенного в 100 *мл* воды, оставляют на свету до получения бледно-розовой окраски, после чего прибавляют 0,5 *мл* концентрированной серной кислоты и снова оставляют на свету до получения оранжевой окраски.

Затем разбавляют в мерной колбе до 0,5 *л* и сохраняют в темном месте. Раствор годен к употреблению через сутки после его приготовления; сохраняется в течение трех месяцев.

Формальдегид

При большом содержании формальдегида в производственных сточных водах (>10 *мг/л*) его определяют объемным методом, при малом содержании — колориметрически.

а) *Объемный метод* основан на взаимодействии карбонильных соединений (альдегидов и кетонов) с солянокислым гидроксиламином. При этом образуется оксим и выделяется соляная кислота в количестве, эквивалентном взятому альдегиду. Реакция для формальдегида протекает по уравнению:

$$\underset{\text{формальдегид}}{\begin{matrix} H \diagdown \\ \qquad C = O \\ H \diagup \end{matrix}} + \underset{\text{солянокислый гидроксиламин}}{NH_2OH \cdot HCl} \rightarrow \underset{\text{формальдоксим}}{\begin{matrix} H \diagdown \\ \qquad C = NOH \\ H \diagup \end{matrix}} + H_2O + HCl.$$

Образующаяся соляная кислота определяется титрованием щелочью в присутствии смешанного индикатора.

Реакция протекает количественно в течение 0,5 часа. Метод может применяться в присутствии фенола, метилового спирта и т. д. Если сточная вода кислая, ее необходимо перед началом определения нейтрализовать по смешанному индикатору и сделать поправку на гидролиз солянокислого гидроксиламина[1]. Последнее достигается постановкой контрольного опыта, в котором определя-

---

[1] Соли гидроксиламина в водном растворе в некоторой степени разлагаются с выделением свободной кислоты

$$NH_2OH \cdot HCl \xrightarrow[H_2O]{} NH_2OH + HCl.$$

ется количество кислоты, выделившееся при гидролизе солянокислого гидроксиламина за 0,5 часа.

Ход определения. В коническую колбу емкостью 250 *мл* помещают 100 *мл* сточной воды, прибавляют 6—8 капель смешанного индикатора и нейтрализуют 0,01 н. раствором едкого натра до зеленого цвета. Затем приливают 10 *мл* раствора солянокислого гидроксиламина и дают постоять при комнатной температуре 0,5 часа.

Раствор при этом окрашивается в розовый цвет вследствие образования свободной кислоты. Одновременно производят контрольный опыт, для чего во вторую колбу наливают 100 *мл* дистиллированной воды, прибавляют 10 *мл* раствора солянокислого гидроксиламина, 6—8 капель смешанного индикатора и оставляют постоять также на 0,5 часа.

Затем оттитровывают первую и вторую пробы 0,01 н. раствором едкого натра до перехода розовой окраски в зеленую. Если анализируемая вода содержит формальдегида больше 100 *мг/л*, пользуются 0,1 н. раствором щелочи. Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot N \cdot 30 \cdot 1000}{V},$$

где

X — содержание формальдегида в пробе сточной воды в *мг/л*;
a — количество *мл* раствора щелочи, ушедшее на титрование испытуемой пробы;
b — количество *мл* раствора щелочи, ушедшее на титрование контрольной пробы;
N — нормальность раствора щелочи;
30 — эквивалент формальдегида;
V — объем сточной воды, взятой для титрования.

Реактивы: 1. 1% раствор солянокислого гидроксиламина.
2. Едкий натр, 0,01 н. раствор.
3. Смешанный индикатор (стр. 19).

б) Колориметрический метод. Метод основан на реакции формальдегида с фуксин-сернистой кислотой, в результате которой образуется окрашенное в фиолетовый цвет соединение.

Другие альдегиды реагируют таким же образом. Но если проводить реакцию в присутствии серной кислоты, то окраска, вызванная уксусным альдегидом и др. альдегидами, исчезает в течение 0,5 часа, а окраска от формальдегида сохраняется.

Ход определения. 10 *мл* сточной воды наливают в плоскодонную пробирку из бесцветного стекла, приливают 0,5 *мл* серной кислоты (1 : 3) и 1 *мл* фуксин-сернистой кислоты, перемешивают и нагревают в течение 5 минут на водяной бане при температуре 40°.

Одновременно готовят шкалу стандартных растворов формальдегида. Для этого в ряд пробирок вносят 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6; 8 и 10 *мл* рабочего стандартного раствора формальдегида и доводят дистиллированной водой объем до 10 *мл*. Концентрация формаль-

дегида в этих пробирках составляет соответственно 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6; 8 и 10 *мг/л*.

Во все пробирки вносят 0,5 *мл* серной кислоты (1 : 3), 1 *мл* раствора фуксин-сернистой кислоты, перемешивают и также выдерживают 5 минут при 40°.

Окраску анализируемой пробы сравнивают с окраской приготовленной шкалы стандартных растворов формальдегида.

Реактивы: 1. Серная кислота (1 : 3).

2. Фуксин-сернистая кислота (приготовление см. на стр. 103).

3. Стандартный раствор формальдегида: 2,5 *г* продажного 40% раствора формальдегида растворяют в 1 *л* дистиллированной воды. Содержание формальдегида в этом растворе определяют объемным методом (см. стр. 104); оно составляет приблизительно 1 *г/л*.

Для титрования отбирают 10 *мл* стандартного раствора формальдегида, прибавляют 10 *мл* 1% раствора гидроксиламина, 6—8 капель смешанного индикатора и небольшое количество дистиллированной воды. Через 30 минут оттитровывают выделившуюся кислоту 0,1 н. раствором щелочи.

Разведением основного раствора формальдегида в 100 раз получают рабочий раствор с содержанием формальдегида 10 *мг/л*. 1 *мл* рабочего раствора содержит 0,01 *мг* формальдегида.

Смолы, масла и нефтепродукты

Смолы и масла встречаются в сточных водах коксохимических производств, газогенераторных станций, обогатительных фабрик, нефтеперегонных заводов, нефтепромыслов и нефтебаз.

К ним относятся смазочные масла, собственно нефтепродукты (керосин и т. д.) и различные виды смол.

Относительно большие количества смол и масел (и нефтепродуктов) определяются весовым методом, основанным на извлечении их эфиром из сточной воды, насыщенной хлоридом натрия, и взвешивании после отгона эфира. Влага, содержащаяся в эфирной вытяжке, удаляется при взаимодействии смолистого остатка с карбидом кальция.

Ход определения. 100—500 *мл* сточной воды (в зависимости от содержания смол и масел) вносят в коническую колбу, прибавляют хлорид натрия до насыщения, переносят в делительную воронку, приливают 30 *мл* эфира и экстрагируют 3—5 раз до обесцвечивания эфирного слоя. Эфирные вытяжки собирают в склянку с притертой пробкой, затем переносят в заранее взвешенную колбу, отгоняют на водяной бане эфир, сушат остаток 5 минут в сушильном шкафу при температуре 40° С и по охлаждении взвешивают.

После взвешивания в колбу всыпают навеску 1—1,5 *г* тонко измельченного карбида кальция. При этом происходит реакция между карбидом кальция и оставшейся в колбе влагой, в результате которой выделяется ацетилен в количестве, эквивалентном находившейся там воде:

$$CaC_2 + 2H_2O \rightarrow Ca(OH)_2 + C_2H_2$$

Затем колбу помещают в эксикатор и после охлаждения взвешивают. Расчет ведут по формуле:

$$X = \frac{[a - 1{,}385\,(b - c)] \cdot 1000}{V},$$

где

a — вес масла и смолы + вода (за вычетом веса колбы);
b — вес колбы с маслами и смолами + вода + навеска карбида кальция;
c — то же, после реакции с карбидом кальция;
(b — c) — дает количество выделившегося ацетилена;
1,385 — количество воды, эквивалентное 1 *мг* ацетилена;
V — объем сточной воды, взятой для определения.

Реактивы: 1. Серный эфир, обезвоженный.
2. Хлористый натрий, х. ч.
3. Карбид кальция, ч.

Определение малых количеств нефтепродуктов. Малые количества нефтепродуктов в воде (менее 1 *мг/л*) достаточно точно определяются методом люминесцентного анализа. При отсутствии люминесцентной лампы их можно определить по методу, рекомендованному во «Временных указаниях по санитарной охране водоемов от загрязнения нефтью».

Принцип метода заключается в адсорбции нефтепродуктов на свежеосажденной гидроокиси алюминия, растворении осадка серной кислотой и извлечении указанных соединений из кислого раствора эфиром.

Ход определения. 3—5 литров нефильтрованной воды наливают в бутыль, прибавляют 10—15 *мл* 5% раствора сернокислого алюминия. Воду перемешивают и подщелачивают 10% раствором аммиака до достижения щелочной реакции (проба на лакмус). Затем бутыль с водой ставят в теплую воду (50—55°) на 2—3 часа для ускорения выпадения гидроокиси алюминия и оставляют постоять еще на 12 часов.

После отстаивания осадка прозрачный слой воды сифонируют (или декантируют), а осадок растворяют в 3% серной кислоте, переносят раствор в делительную воронку и извлекают нефтепродукты эфиром несколько раз, до обесцвечивания эфирного слоя. В дальнейшем поступают так же, как в первом случае.

Расчет производят по той же формуле.

При определении нефтепродуктов данным способом легкие фракции улетучиваются.

Ароматические амины

Ароматические амины (анилин, толуидин и др.) встречаются в сточных водах промышленности основного органического синтеза, анилино-красочной промышленности и т. д.

Определение хлораминовым методом

Принцип определения ароматических аминов (анилина, толуидина и др.) заключается в отгоне их из сточной воды в щелочной среде и последующем определении в дистилляте в виде индофенола после окисления хлорамином в присутствии фенола и щелочи.

Метод пригоден при содержании аминов в сточной воде менее 50 *мг/л*.

Ход определения. 25—50 *мл* сточной воды помещают в колбу Вюрца емкостью 500 *мл*, прибавляют 10 *мл* 10% раствора едкого натра, соединяют с парообразователем и перегоняют с водяным паром до полного отсутствия аминов в дистилляте (проба с хлорамином и фенолом в щелочной среде). Отгон в зависимости от его количества доводят до определенного объема в мерной колбе.

5 *мл* отгона помещают в плоскодонную пробирку бесцветного стекла с меткой на 10 *мл*, приливают 1 *мл* 4% раствора хлорамина, 1 *мл* 3% раствора фенола и 0,5 *мл* 2% раствора едкого натра. Перемешивают палочкой и оставляют на 20 минут для развития окраски. По истечении указанного срока окраска достигает максимума и затем остается неизменной в течение нескольких часов.

Через 20 минут доводят объем пробы до 10 *мл*, снова перемешивают и измеряют оптическую плотность окрашенного в голубой цвет соединения на фотоколориметре, в кювете длиной 20 *мм* с красным светофильтром. Содержание амина в дистилляте находят по калибровочной кривой, которая представляет собой прямую линию, проходящую через начало координат.

Для построения калибровочной кривой приготовляют серию стандартных растворов с концентрацией анилина от 0,2 до 4,5 *мг/л*. Основным раствором служит раствор с концентрацией анилина 1 *г/л*. Содержание анилина в этом растворе устанавливают бромидброматным методом (см. ниже).

Разведением этого раствора в 100 раз приготовляют рабочий раствор с концентрацией анилина 10 *мг/л*.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot V_1}{V_2},$$

где

X — содержание анилина в сточной воде в *мг/л*;

a — содержание анилина в отгоне в *мг/л*, найденное по калибровочной кривой;

V_1 — объем отгона;

V_2 — объем сточной воды, взятой для перегонки.

При отсутствии фотоколориметра сравнивают окраску испытуемой пробы с окраской соответствующего стандартного раствора анилина.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{b \cdot V_1}{V_2},$$

где

X — содержание анилина в сточной воде в *мг/л*;

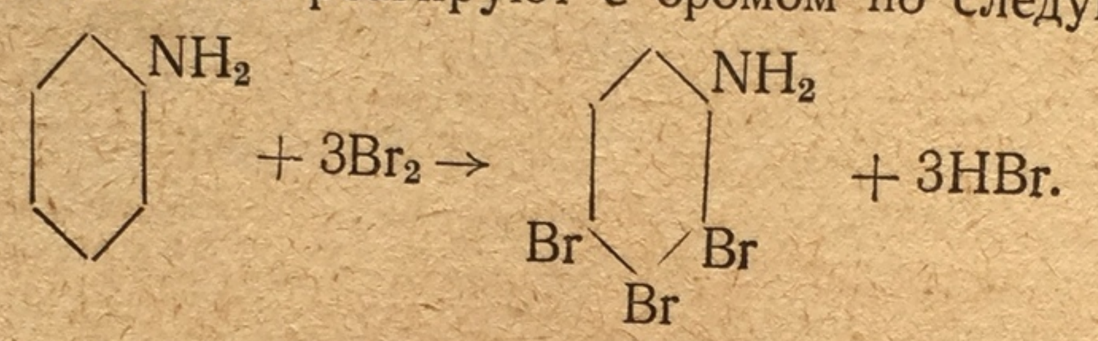
b — содержание анилина в *мг/л* в стандартном растворе, взятом для сравнения;

V_1 и V_2 — объем отгона и сточной воды, взятой для перегонки. Чувствительность определения составляет 0,2 *мг/л*, ошибка — 3%.

б) Определение бромид-броматным методом

При содержании ароматических аминов в сточной воде свыше 50 *мг/л* определение производят бромид-броматным методом.

Метод основан на том, что ароматические амины, например анилин, количественно реагируют с бромом по следующей схеме:



Бромирование осуществляется действием на амины раствора бромид-бромата калия, в котором при подкислении происходит выделение брома по реакции:

$$5KBr + KBrO_3 + 6HCl \rightleftarrows 3Br_2 + 6KCl + 3H_2O.$$

По окончании бромирования к раствору прибавляют йодид калия и оттитровывают выделившийся йод тиосульфатом.

$$Br_2 + 2KJ + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaJ + Na_2S_4O_6 + 2KBrJ.$$

Ход определения. Отгон производится согласно вышеуказанному способу. 50 *мл* дистиллята вносят в коническую колбу с притертой пробкой, прибавляют 30 *мл* 0,01 н. раствора бромид-бромата калия, 10 *мл* серной кислоты (1 : 3) и оставляют на 30—40 минут в темном месте.

Параллельно проделывают контрольный опыт, для чего в другую колбу с притертой пробкой вносят 50 *мл* дистиллированной воды и те же количества реактивов.

По истечении 40 минут в обе колбы всыпают по одному грамму сухого йодистого калия и через 5 минут оттитровывают выделившийся йод 0,05 н. раствором тиосульфата натрия.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot N \cdot V \cdot 1000 \cdot 93}{V_1 \cdot V_2},$$

где

X — содержание ароматических аминов в сточной воде в *мг/л* (в расчете на анилин);

a — разность между количеством *мл* раствора тиосульфата, ушедшего на титрование контрольной и испытуемой пробы;

N — нормальность раствора тиосульфата;

V — объем отгона;
V_1 — объем, взятый для бромирования,
V_2 — объем сточной воды, взятый для перегонки;
93 — эквивалент анилина.

Реактивы: 1. 10% раствор NaOH.
2. 4% раствор хлорамина.
3. 3% раствор фенола (готовится из сублимированного фенола).
4. 2% раствор NaOH.
5. 0,01 н. раствор бромид-бромата калия: 0,9917 *г* KBr и 0,2783 *г* $KBrO_3$ растворяют в дистиллированной воде и доводят объем раствора до 1 литра.
6. 0,05 н. раствор тиосульфата натрия.
7. Серная кислота (1 : 3).
8. 0,5% раствор крахмала.

Нитробензол

Нитробензол встречается в сточных водах промышленности органического синтеза, анилино-красочной промышленности и т. д. Оказывает отрицательное влияние на органолептические свойства воды.

Принцип определения нитробензола заключается в отгоне из сточной воды в кислой среде и повторном отгоне дистиллята в щелочной среде.

При этом удаляются мешающие реакции амины и нитрофенолы.

Из второго отгона нитробензол определяется в виде индофенола после восстановления гидросульфитом до анилина (см. определение аминов).

Ход определения. 25—50 *мл* сточной воды помещают в колбу Вюрца, прибавляют 2,5 *мл* серной кислоты (1 : 3), соединяют с парообразователем и отгоняют с водяным паром 100 *мл* жидкости.

К полученному отгону приливают 10 *мл* 10% раствора NaOH и повторно отгоняют с водяным паром до объема 100 *мл*.

5 *мл* из второго отгона помещают в плоскодонную пробирку с меткой на 10 *мл*, прибавляют 5 капель свежеприготовленного раствора гидросульфита и кипятят на водяной бане 10 минут.

Охлаждают, прибавляют 1 *мл* 4% раствора хлорамина, 1 *мл* 3% раствора фенола и 0,5 *мл* 2% раствора NaOH. Перемешивают и оставляют на 20 минут для развития окраски. Через 20 минут доводят дистиллированной водой до метки и определяют оптическую плотность окрашенного соединения на фотоколориметре с красным светофильтром в кювете длиной 20 *мм*.

Содержание нитробензола в дистилляте рассчитывают по калибровочной кривой.

Для построения калибровочной кривой приготовляют серию стандартных растворов нитробензола с концентрацией от 0,5 до 30 *мг/л*.

Исходным раствором служит раствор нитробензола с концентрацией 1 *г/л*.

Разведением этого раствора в 10 раз получают рабочий стандартный раствор с концентрацией нитробензола 100 *мг/л*.

Стандартные растворы нитробензола восстанавливают гидросульфитом в тех же условиях и к ним затем прибавляют указанные выше реактивы. Калибровочная кривая представляет собой прямую линию, проходящую через начало координат.

Наименьшее количество нитробензола, определяемое по данной кривой, составляет 0,5 *мг/л*, наибольшее — 30 *мг/л*.

Содержание нитробензола в сточной воде рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot V_1}{V_2},$$

где

X — содержание нитробензола в сточной воде в *мг/л*;

a — концентрация нитробензола в отгоне, найденная по калибровочной кривой;

V_1 — объем отгона;

V_2 — объем сточной воды, взятой для перегонки.

При отсутствии фотоколориметра производят сравнение испытуемой пробы с шкалой стандартных растворов нитробензола.

В этом случае расчет производят по формуле:

$$X = \frac{b \cdot V_1}{V_2},$$

где

b — концентрация нитробензола в стандартном растворе, взятом для сравнения, в *мг/л*;

V_1 — объем отгона;

V_2 — объем сточной воды, взятой для перегонки.

Содержание нитробензола в основном стандартном растворе устанавливается методом диазотирования. К 50 *мл* раствора прибавляют 10 *мл* концентрированной соляной кислоты, всыпают цинковую пыль до прекращения растворения и кипятят на плитке 15 минут с воздушным холодильником.

При этом нитробензол восстанавливается до анилина.

Отфильтровывают остаток цинковой пыли, охлаждают фильтрат до температуры 5—8°, всыпают щепотку бромида калия (для ускорения реакции диазотирования) и титруют 0,1 н. раствором нитрита натрия до посинения йодкрахмальной бумаги.

Реактивы: 1. Серная кислота (1 : 3).

2. 2% раствор гидросульфита: 2 *г* гидросульфита $Na_2S_2O_4$ растворяют в 100 *мл* 0,1 н. NaOH. Раствор готовят перед употреблением.

3. 3% раствор фенола (готовится из сублимированного фенола).

4. 4% раствор хлорамина.

5. Цинковая пыль.

6. HCl концентрированная.

7. $NaNO_2$, 0,1 н. раствор. Готовится перед употреблением.

8. Йодкрахмальная бумага приготовляется следующим образом: 10 *г* растворимого крахмала размешивают с небольшим количеством дистиллированной

воды и полученную смесь приливают тонкой струей к одному литру кипящей воды. Охлаждают до комнатной температуры и смешивают с раствором 2 *г* йодида калия в 15—20 *мл* воды.

Полученным раствором пропитывают беззольную фильтровальную бумагу и сушат в темном помещении. Йодкрахмальную бумагу хранят в банке из темного стекла с притертой пробкой.

Трихлорбензол

Трихлорбензол сжигается смесью серной кислоты с бихроматом калия в присутствии кислорода воздуха. Образовавшийся при этом свободный хлор поглощается раствором йодистого кадмия. В результате реакции выделяется эквивалентное количество йода, которое определяется объемным методом (в случае больших его количеств) либо колориметрически — при малых количествах.

Ход определения. Определенное количество воды (100—250 *мл*) вносят в делительную воронку и экстрагируют 3 раза, добавляя по 25—30 *мл* эфира.

Эфирные вытяжки собирают в склянку с притертой пробкой и обезвоживают сернокислым натрием в течение 12 часов. После этого фильтруют через бумажный фильтр, промывая 2—3 раза эфиром и сливают фильтрат в реакционную колбу прибора. Эфир выпаривают при температуре 45° и проводят сжигание остатка. Для этого в колбу прибора вносят 4 *мл* сернохромовой смеси (не содержащей хлоридов), взбалтывают и помещают колбу в нагретую до 50—60° парафиновую баню. Затем немедленно погружают отводную трубку прибора в пробирку — приемник, в которую предварительно наливают 15 *мл* поглотительного раствора. Закрепив колбу в штативе, закрывают ее пробкой и соединяют отводной трубкой с промывными склянками. Нагревают парафиновую баню до 135 °.

По достижении указанной температуры через установку пропускают воздух со скоростью 50—60 *см*³ в минуту.

Конец реакции определяют по прекращению выделения йода (свеженалитый поглотительный раствор остается бесцветным). Выделившийся йод определяют объемным методом при концентрации трихлорбензола выше 1 *мг/л*, а при меньшей концентрации колориметрически. Содержание трихлорбензола при определении объемным методом рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot к \cdot 142 \cdot 5{,}11 \cdot 1000}{V},$$

где

X — количество *мкг* (γ) трихлорбензола в 1 *л* воды;

a — количество 0,004 н. раствора тиосульфата натрия, ушедшего на титрование пробы;

V — количество *мл* воды, взятое для экстрагирования;

к — поправочный коэффициент титрованного раствора тиосульфата натрия;

142 — количество *мкг* (γ) хлора, соответствующее 1 *мл* 0,004 н. раствора тиосульфата натрия;

5,11 — переводной коэффициент для трихлорбензола.

Малые количества выделившегося йода определяются колориметрически, а именно: путем сравнения окрашенного йодкрахмального раствора с серией стандартных растворов йода. Для этого в ряд пробирок на 10 *мл* вносят 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 *мл* стандартного раствора йода и доводят до метки поглотительным раствором. В контрольную пробирку наливают до метки только поглотительный раствор. Таким образом получают стандарты, соответствующие содержанию 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и 10 *мкг* хлора в 10 *мл* поглотительной жидкости. Для колориметрирования берут 10 *мл* исследуемого окрашенного раствора и сравнивают с соответствующим стандартом шкалы.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot b \cdot к \cdot 1000}{v \cdot v_1},$$

где

X — количество *мкг* (γ) трихлорбензола в 1 *л* воды;

a — количество *мкг* хлора в стандарте, взятом для сравнения;

b — количество *мл* окрашенного исследуемого раствора (15 *мл*);

v — количество *мл* окрашенного исследуемого раствора, взятое для колориметрирования (10 *мл*);

v_1 — количество *мл* воды, взятое для экстрагирования;

к — переводной коэффициент для трихлорбензола (5,11).

Методика не специфична. Наличие в воде других хлорорганических соединений мешает определению трихлорбензола. Точность метода ± 8%, чувствительность 30 *мкг* (γ) в исследуемой пробе.

Реактивы: 1. Эфир химически чистый.

2. Сернохромовая смесь: 25 *г* $K_2Cr_2O_7$ растворяют в 100 *мл* концентрированной серной кислоты.

3. Раствор для поглощения хлора; 100 *мл* 2,5% раствора йодистого кадмия смешивают с 50 *мл* 1% раствора крахмала, кипятят несколько минут и по охлаждении добавляют 500 *мл* дистиллированной воды.

4. 0,004 н. раствор тиосульфата натрия.

5. Стандартный раствор йода 2,82 *мл* 0,01 н. раствора йода вносят в мерную колбу емкостью 100 *мл* и доводят дистиллированной водой до метки. 1 *мл* этого раствора соответствует 10 *мкг* хлора.

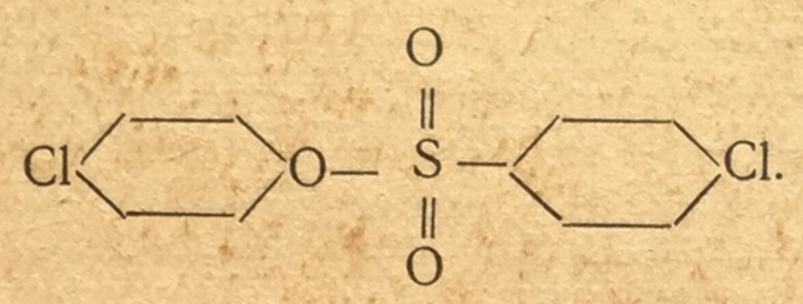
6. Безводный сернокислый натрий.

Эфирсульфонат [1]

Эфирсульфонат (или иначе овотран) представляет собой парахлорфенилпарахлорбензолсульфонат, белое кристаллическое веще-

[1] Определение этого инсектофунгисида включено в настоящее руководство в связи со значительной растворимостью в воде его товарного препарата.

ство, практически нерастворимое в воде. Структурная формула эфирсульфоната (пароизомера) имеет следующий вид:



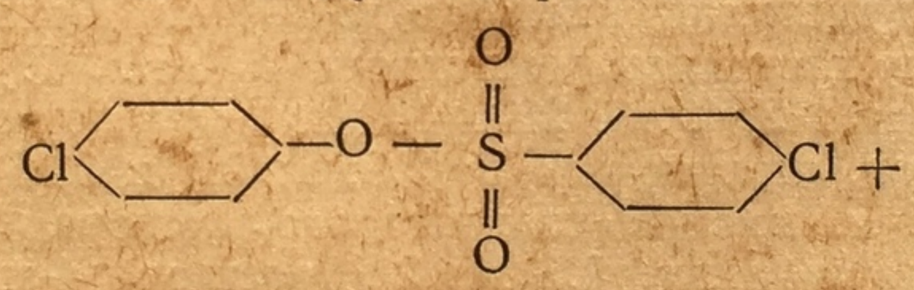
Указанное соединение применяется в качестве инсектицида.

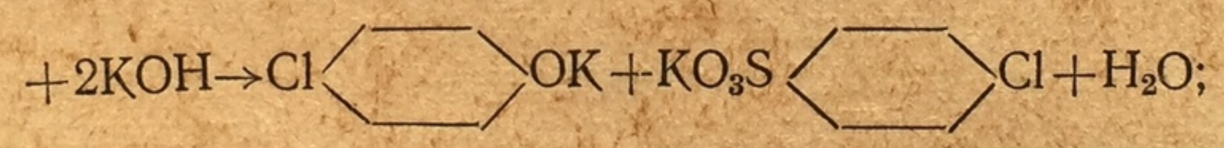
Технический эфирсульфонат представляет смесь орто-, мета-, и параизомеров и дихлорпроизводных. Он также чрезвычайно плохо растворяется в воде.

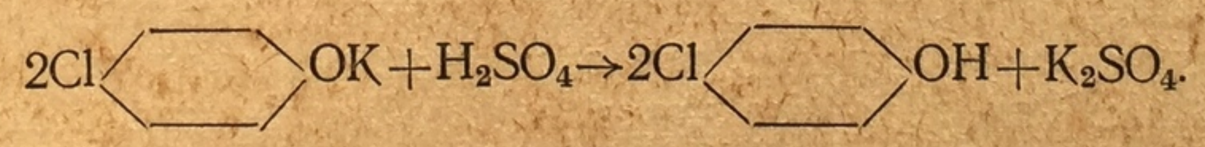
Товарный препарат изготовляется при смешении 30 весовых частей технического эфирсульфоната, 6 частей сульфита, 3 частей детергентов и 61 части каолина. В присутствии детергентов растворимость эфирсульфоната в воде увеличивается, что дает возможность применять его в виде растворов и суспензий для полива растений.

Малые количества эфирсульфоната в природных водах определяются колориметрически. Принцип метода заключается в том, что данное соединение гидролизуется в присутствии щелочи до парахлорфенолята, а полученный после подкисления парахлорфенол отгоняется с водяным паром и определяется в отгоне с 4-аминоантипирином (см. методику определения фенола).

При этом происходят следующие реакции:







Метод разработан для определения эфирсульфоната в растениях и с некоторыми видоизменениями применен нами для определения указанного соединения в воде.

Ход определения. 100 *мл* воды, содержащей эфирсульфонат, насыщают поваренной солью, наливают в делительную воронку, приливают 20 *мл* эфира и экстрагируют в течение 10 минут. После отстаивания водный слой отбрасывают, а эфирную вытяжку сливают в круглодонную колбу, закрытую пробкой, через которую продет воздушный холодильник. Прибавляют 15 *мл* 0,1 н. спиртового раствора едкого калия, испаряют эфир при температуре 40—50°, а

затем омыляют содержимое колбы в течении 30 минут на кипящей водяной бане. По окончании омыления переносят остаток (около 3 *мл*) в перегонную колбу, подкисляют серной кислотой (1 : 3) до кислой реакции по метилоранжу, приливают 10 *мл* 10% раствора медного купороса и отгоняют с водяным паром до отсутствия фенолов в отгоне (проба с 4-аминоантипирином).

Дистиллят доводят до 100 *мл*. К 50 *мл* дистиллята прибавляют 1 *мл* 2 н. раствора аммиака, 0,5 *мл* 2% раствора 4-аминоантипирина, 1 *мл* 2% раствора красной кровяной соли и через 20 минут определяют светопоглощение полученного окрашенного соединения на фотоколориметре с зеленым светофильтром в кювете рабочей длиной 30 *мм*.

Параллельно проделывают контрольный опыт: для этого 15 *мл* эфира омыляют 15 *мл* 0,1 н. спиртового раствора КОН, гидролизат перегоняют в кислой среде с водяным паром и в отгоне определяют парахлорфенол с 4-аминоантипирином. Полученный результат в дальнейшем всегда отнимают от результатов определения эфирсульфоната в испытуемой воде.

Содержание эфирсульфоната рассчитывают по калибровочной кривой.

Для построения калибровочной кривой поступают следующим образом: 5 *мг* химически чистого эфирсульфоната омыляют спиртовым раствором щелочи согласно вышеуказанному методу. Гидролизат, содержащий калиевую соль парахлорбензолсульфокислоты и парахлорфенолят калия, перегоняют с водяным паром в кислой среде. Объем дистиллята доводят до 500 *мл*. Концентрация эфирсульфоната в дистилляте составляет 10 *мг/л*. Путем разведения этого раствора в 2, 4, 10, 20 и 40 раз получают серию стандартных растворов, отвечающих 5; 2,5; 1; 0,5 и 0,25 *мг/л* эфирсульфоната. К 50 *мл* каждого стандартного раствора прибавляют 1 *мл* 2 н. раствора аммиака, 0,5 *мл* 2% раствора 4-аминоантипирина и 1 *мл* 2% раствора красной кровяной соли.

Через 20 минут измеряют оптическую плотность окрашенных растворов против контрольного раствора на фотоколориметре, составляют таблицу и строят калибровочную кривую.

Калибровочная кривая для эфирсульфоната представляет прямую линию, проходящую через начало координат. Контрольным раствором служит дистиллированная вода, к которой прибавляют те же реактивы.

Реактивы: 1. Эфир серный, химически чистый.
2. Серная кислота (1 : 3).
3. 0,1 н. спиртовый раствор КОН.
4. 2 н. раствор аммиака.
5. 2% раствор 4-аминоантипирина (годен в течение 10 дней).
6. 2% раствор красной кровяной соли (годен в течение 10 дней).
7. Химически чистый эфирсульфонат: получается при многократной перекристаллизации технического препарата из спирта или бензола.

Белое кристаллическое вещество с температурой плавления 79—84° С.

ЛИТЕРАТУРА

Алексеева М. В., Гурвиц С. О., Андросов Б. Е., Житкова А. С. Определение вредных веществ в воздухе производственных помещений, Госхимиздат, Москва, 1954.

Анализ городских сточных вод. Под редакцией профессора С. И. Строганова, Москва-Ленинград, 1945.

Лурье Ю. Ю. Методы анализа производственных сточных вод, Водгео, Москва, 1948.

Лурье Ю. Ю. и Рыбникова А. И. Химический анализ производственных сточных вод, Москва, 1958.

Standart methods for the examination of water sewage and industrial wastes USA, 10 edition, 1955.

ЧАСТЬ ТРЕТЬЯ

МЕТОДЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

Микробы поступают в воду в основном из почвы и частично из воздуха. С выделениями людей и животных, а также с хозяйственно-бытовыми, больничными и некоторыми промышленными сточными водами в водоемы могут попадать различные болезнетворные микробы: холерный вибрион, палочка брюшного тифа, паратифа А и В, дизентерийные микробы, сибиреязвенная палочка, лептоспиры, туляремийная палочка, бруцеллы, вирусы полиомиелита, Коксаки, эпидемического гепатита и др. При этом они могут сохраняться в воде в течение различного срока. Например, возбудитель брюшного тифа в воде озер, прудов и колодцев сохраняет жизнеспособность месяцами, дизентерийные микробы — до 2 недель, споры сибиреязвенной палочки — довольно длительное время.

Обнаружение в воде патогенных представителей кишечно-тифозной группы микробов до последнего времени представляло большие трудности. В связи с этим были предложены методы косвенного выяснения фекального загрязнения воды путем определения в ней кишечной палочки.

Бактериальными показателями руководствуются как при решении вопроса о возможности использования для питьевых целей нового водоисточника, так и в порядке текущего санитарного надзора за эксплуатируемыми водопроводами и колодцами. Кроме того, они используются в тех случаях, когда составляется санитарная характеристика водоснабжения населенного пункта или изучается влияние промышленных стоков на водоемы.

ПОДГОТОВКА К САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ ВОДЫ

Достоверность результатов санитарно-бактериологических исследований в большой мере зависит от рациональной подготовки к анализу. Это относится прежде всего к приемам отбора проб воды, хранения и транспортирования их в лабораторию.

Наиболее часто причиной ошибочных результатов анализа является загрязнение пробы воды при отборе или порча ее вследствие продолжительного хранения и транспортирования в недопустимых условиях. Чтобы избежать таких ошибок, необходимо строго соблюдать правила асептики в процессе отбора пробы, предназначенной для бактериологического исследования, исключающие возможность загрязнения ее извне. Кроме того, результаты анализа во многом определяются деталями методики исследования. Поэтому при выполнении таких анализов необходимо пользоваться стандартными питательными средами и выполнять все требования и условия методов, предусмотренных действующими ГОСТами.

ОТБОР, ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ ПРОБ ВОДЫ В ЛАБОРАТОРИЮ

Пробы воды для санитарно-бактериологического исследования отбирают в стерильную посуду (обычные бутылки) емкостью на 0,5 *л*. Отбор проб поручается хорошо проинструктированному лицу, ознакомленному с правилами соблюдения асептики.

Места отбора проб определяются характером водоисточников и целью исследования.

При обследовании открытого водоема, предполагаемого к использованию в качестве источника централизованного водоснабжения, пробы отбираются в пункте, предназначаемом для будущего забора воды, и при необходимости несколько выше по течению.

При существующем водозаборе из открытого водоема пробы отбираются:

а) у водоприемного отверстия;

б) из водоприемного колодца насосной станций 1-го подъема;

в) после отстойников;

г) после фильтрации — из всех ячеек скорых фильтров и общего фильтрата;

д) из коллектора чистой воды на очистной станции;

е) из резервуара чистой воды на насосной станции 2-го подъема;

ж) из кранов водопроводной сети и водоразборных колонок.

Отбор проб воды, подаваемой хозяйственно-питьевыми водопроводами, производится в наиболее характерных точках сети: ближайших к насосной станции, наиболее удаленных, наиболее возвышенных, в тупиках и точках, вызывающих особые сомнения в отношении качества воды.

Исследуются также пробы воды, подаваемой насосными станциями артезианского водопровода и воды шахтных колодцев.

С целью изучения процессов самоочищения от загрязнений, происходящих в открытом водоеме, в частности в реке при свободном течении, пробы отбираются:

а) выше места загрязнения;

б) непосредственно у места загрязнения;

в) ниже места загрязнения в нескольких пунктах, в зависимости от интенсивности загрязнения водоема. При этом места отбора проб намечаются как по продольному, так и поперечному сечению водного потока в средней и прибрежных частях реки, на расстоянии от берегов в 10—20 метрах.

При изучении зарегулированных участков рек — водохранилищ — с весьма слабым течением или полным отсутствием течения, местами отбора проб являются прежде всего пункты, предназначаемые для будущего водозабора или уже существующего водозабора, а также места выпуска стоков.

В тех случаях, когда предстоит исследование шахтных вод, пробы воды необходимо отбирать:

а) из родников в подземных выработках;

б) в выработках и клетьевых стволах (капежная вода);

в) из так называемой «помойницы»;

г) из смотрового колодца специальной канализационной сети на земной поверхности;

д) из открытого водоема в месте сброса шахтных вод из канализации.

Если отбирается проба из открытого водоема на глубине до 2—3 метров, то бутылку прикрепляют к штанге при помощи стерильного шпагата, резинового жгута или металлического зажима (от штатива Бунзена) и погружают на требуемую глубину.

Поверхностные пробы из открытых водоемов отбирают из глубины 10—15 *см* от поверхности воды. При наличии течения пробы отбираются по возможности на быстрине (горлышко бутылки должно быть направлено против течения); при наличии перепадов воды — из падающей струи. Если водоем покрыт льдом, то пробы отбираются из проруби на расстоянии 10—15 *см* от нижней поверхности льда.

На нужной глубине бутылку открывают, дергая за шпагат, привязанный к пробке. После того как бутылка наполнится водой, ее извлекают и избыток воды сливают. Края горлышка обжигают и бутылку плотно закрывают обожженной резиновой пробкой. Затем пробку и верхнюю часть бутылки покрывают стерильным бумажным колпачком и обвязывают шпагатом. Укупорка ватно-марлевой пробкой не вполне надежна и требует весьма осторожного обращения при транспортировании пробы воды. Пробы с промокшими ватно-марлевыми пробками лабораторией не принимаются, так как возможно загрязнение воды.

При необходимости отобрать глубинную пробу воды производят предварительно промер глубины водоема. Проба отбирается на расстоянии не менее 1 *м* от дна; при малой глубине водоема — не менее 10—15 *см* от дна.

Для отбора глубинных проб применяются батометры (см. рис. 1).

Бактериологический батометр представляет собою металлический каркас, внутри которого устанавливается склянка (бутылка). Свинцовое дно прибора служит грузом. Прибор снабжен специальным передвижным затвором с резиновой прокладкой, которой закрывается вставленная стерильная бутылка. После погружения прибора на нужную глубину дергают за шнур, прикрепленный к затвору, и вода вливается в бутылку. Перед употреблением весь прибор тщательно обжигается.

Батометр необходим при отборе проб из резервуара чистой воды центрального водопровода. В этом случае прибор с вмонтированной в него бутылкой стерилизуется в автоклаве в специальном непроницаемом (клеенчатом, брезентовом) чехле вместе со шнурами. Подобный отбор пробы воды обеспечивает полную стерильность.

При работе на крупных открытых водоемах с большими глубинами удобно пользоваться батометром Рутнера (см. рис. 1), емкостью 1,5-2 *л*, представляющим собою полый медный цилиндр с двумя открывающимися днищами. После обжигания батометр

погружается в воду в открытом виде, причем оба днища закрепляются пружиной. На заданной глубине батометр 2—3 минуты промывается водой, после чего оба днища захлопываются на той же глубине пружиной, соскакивающей при подергивании троса. По извлечении батометра воду с соблюдением асептики переливают через трубку его в стерильную бутылку.

При отсутствии батометра единичные пробы воды из сравнительно небольшой глубины (примерно до 10 метров) можно отобрать бутылками, специально смонтированными с соответствующим глубине грузом (3—5 килограмм) и двумя шнурами. Весь набор стерилизуется в специальном чехле и применяется, как описано выше.

При отборе проб из шахтных колодцев можно пользоваться описанными способами. Кроме этого, часто пользуются общественным ведром, имеющимся при колодце, тщательно вымытым и обожженным спиртовым факелом. Воду наливают в бутылку через край ведра (но ни в коем случае не погружают ее в ведро).

При отборе проб воды из водопроводных кранов или уличной водоразборной колонки места истечения воды тщательно обжигают. Затем в течение 10 минут спускают воду и, вынув ватно-марлевую пробку, отбирают пробу, избегая прикосновения горлышка бутылки с краном. Бутылку наполняют на 4/5 объема. После наполнения водой горлышко бутылки обжигают и закрывают ее запасной стерильной резиновой пробкой, бумажный колпачек обвязывают по горлышку бутылки шпагатом.

В случае, если водопровод новый и только пускается в эксплуатацию, отбор проб производится после хлорирования водопроводных сооружений (сети) и промывания их в течение нескольких суток.

Аналогичные условия должны соблюдаться при отборе проб из буровых скважин. Из вновь сооружаемых или долго бездействующих скважин (колодца, каптажа), в случае отсутствия постоянного излива воды, пробы отбирают после предварительной откачки при эксплуатационной мощности в течение не менее 2 часов. Наполнять бутылку надо, подставив ее под струю воды, с соблюдением всех вышеуказанных правил. При этом желательно отбирать две параллельные пробы.

Отбор проб хлорированной водопроводной воды (ГОСТ-5215-50) производится в посуду с дехлоратором. Для этого в стерильную бутылку объёмом 0,5 *л* вносят 2 *мл* 1,5% стерильного раствора гипосульфита. Это количество гипосульфита связывает активный хлор при содержании его до 2 *мг/л*. При отборе пробы воды из шахтного колодца после его хлорирования раствор гипосульфита добавляется в бутылку после взятия пробы тут же у водоисточника.

При отборе пробы заполняется сопроводительный бланк (см. ч. I, стр. 6).

Пробы воды должны быть доставлены в лабораторию не позднее 2 часов после отбора. Предельным сроком доставки проб, предназначенных для бактериологического анализа, считается 6 часов

от момента выемки, если они в течение этого периода сохраняются при температуре от + 1 до + 5°С.

При необходимости транспортировать пробы воды на далекое расстояние в летнее время их предохраняют от нагревания, а в зимнее время от замерзания. С этой целью рекомендуется доставлять пробы в специально изготовленном деревянном ящике с гнездами и двойными стенками, пространство между которыми должно быть заполнено термоизолирующей прокладкой (войлок, опилки или вата).

Для поддержания в ящике необходимой температуры (от + 1 до + 5°С) в него помещают резиновые мешки, наполненные зимой теплой водой, а летом — емкостью со льдом. Кроме ящика-термоса описанного типа, можно пользоваться утепленными мешками (рюкзаками) с гнездами для бутылок. В таких рюкзаках температура до известной степени также регулируется при помощи резинового мешка со льдом в летнее время или теплой водой в зимнее время.

Тотчас же после доставки пробы вода должна быть подвергнута микробиологическому исследованию. Во время подготовки материалов для выполнения анализа пробу необходимо хранить при температуре от + 1 до + 5°С.

Доставленные в лабораторию пробы воды регистрируются в специальном журнале, куда заносятся данные сопроводительного документа. В графе «Примечание» отмечаются отклонения от ГОСТа 5215—50 в отношении сроков доставки (свыше 6 часов) и состояния пробы.

СТАНДАРТНЫЕ МЕТОДЫ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ

Санитарно-бактериологическое исследование воды должно осуществляться в соответствии с требованиями Государственного общесоюзного стандарта (ГОСТ) 5216—50, переизданного в 1955 году («Вода хозяйственно-питьевого и промышленного водоснабжения. Методы санитарно-бактериологического анализа»). Целью этого исследования является определение показателей, характеризующих степень загрязнения воды, которые широко используются в санитарной практике. К таким показателям относятся следующие:

1. Общее количество микробов в 1 *мл* воды.
2. Коли-индекс или коли-титр (как показатель фекального загрязнения воды).
3. Наличие патогенных микроорганизмов. Исследование в этом случае производится лишь по эпидемиологическим показаниям или по специальному требованию санитарного надзора.

Общее количество микробов в воде («микробное число») устанавливается в 1 *мл* по количеству колоний, вырастающих на 1,5% мясо-пептонном агаре (при глубинном посеве) при температуре 37°С в течение 24 часов. Если исследуется вода открытых

водоемов, то параллельно посевы в тех же объемах выращиваются при 20°С в течение 48 часов.

Наличие в воде микробов, характеризующих фекальное загрязнение, выявляется методом мембранных фильтров или бродильным методом.

Метод мембранных фильтров — фильтрование воды через мембранные фильтры с последующим их инкубированием при 37°С на фуксин-сульфитной среде (Эндо) и подсчетом колоний, типичных для группы кишечной палочки. Результаты анализа выражаются в виде коли-индекса, т. е. количества кишечных палочек, содержащихся в 1 *л* воды.

Бродильный метод — посев воды в глюкозо-пептонную среду (Эйкмана) для накопления микробов группы кишечной палочки и установления их присутствия в воде. Результаты анализа выражаются в виде коли-титра, т. е. наименьшего объема воды в миллилитрах, содержащего кишечную палочку.

При выборе метода для установления степени фекального загрязнения воды пользуются данными санитарно-топографической характеристики обследуемого водоисточника.

Фильтрование через мембранные фильтры целесообразно использовать при исследовании чистых, хорошо фильтрующихся вод (водопроводы, артезианские скважины, колодцы). Этот метод сокращает срок выполнения анализа до 48 часов и, кроме того, облегчает работу в экспедиционных условиях.

При исследовании воды, содержащей большое количество коллоидных веществ (посторонние примеси), целесообразно исследовать ее бродильным методом, предусмотренным ГОСТом 5216-50.

1. ПЛАН САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

Первый день анализа. 1. Записать в журнале анализов данные сопроводительного документа доставленной пробы воды.

2. Подготовить питательные среды, посуду и приборы:

а) мясо-пептонный агар во флаконах (расплавляется и охлаждается до 45°С);

б) глюкозо-пептонную среду (Эйкмана): концентрированную (во флаконах по 10 *мл* и в пробирках по 1 *мл*) и разведенную (нормальную) в пробирках по 10 *мл* для выполнения анализа бродильным методом;

в) фуксин-сульфитный агар (среду Эндо) в чашках Петри для выполнения анализа методом мембранных фильтров;

г) пробирки с 9 *мл* стерильной водопроводной воды для приготовления разведений исследуемой воды;

д) стерильные чашки Петри, пипетки (на 1—2 и 10 *мл*), пипетки Мора на 100 *мл*;

е) фильтровальный аппарат системы Гольдмана или Зейтца;

ж) мембранные фильтры № 3 (стерилизуются кипячением в дистиллированной воде);

з) флакон со спиртом, ватный тампон на проволоке (для факела), пинцеты, спиртовую горелку.

3. Наметить, в каких объемах исследуемой воды следует определять микробное число и титр (индекс) кишечной палочки.

Сделать соответствующие надписи на чашках Петри, пробирках и флаконах.

Перемешать пробу воды и приготовить разведения ее, если посевы будут производиться в объемах менее 0,1 *мл*.

4. Произвести посевы воды:

а) на мясо-пептонный агар (для определения микробного числа) не менее двух объемов исследуемой воды в зависимости от предполагаемой степени загрязнения;

б) на глюкозо-пептонную среду (для определения титра кишечной палочки бродильным методом) соответствующих объемов испытуемой воды в зависимости от предполагаемого загрязнения;

в) фильтрование через мембранные фильтры (для определения коли-индекса) намеченных объемов исследуемой воды в зависимости от предполагаемой степени загрязнения и перенести их на поверхность фуксин-сульфитного агара в чашки Петри.

5. Поместить посевы исследуемой воды в термостат для выращивания:

а) чашки с мясо-пептонным агаром (после застывания среды) при 37 и 20°С в случае анализа воды открытых водоемов;

б) посевы на глюкозо-пептонной среде при 43°С;

в) чашки Петри с наложенными на поверхность фуксин-сульфитного агара мембранными фильтрами (после фильтрации испытуемой воды) при 37°С.

Второй день анализа. 1. Произвести подсчет колоний, выросших на МПА при 37°С, записать результаты в журнал анализов.

2. Учесть результаты посева на глюкозо-пептонной среде и независимо от признаков роста из всех бродильных сосудов произвести пересев на розоловый дифференциальный агар (РДА).

Пробирки с посевами на РДА поместить в термостат при 37°С на 24 часа. Посевы на глюкозо-пептонной среде вновь поставить в термостат при 43°С. Результаты изменения питательных сред записать в журнале анализов.

3. Произвести подсчет колоний, характерных для группы кишечной палочки, выросших на мембранных фильтрах в чашках с фуксин-сульфитным агаром, изучить их микроскопически (мазок по Граму) и отвить в пробирки с разведенной глюкозо-пептонной средой — поставить вторичную бродильную пробу. Посевы поместить в термостат при 43°С на 24 часа.

Третий день анализа. 1. Произвести подсчет колоний, выросших на МПА при 20°С, записать результаты в журнале анализов.

2. Изучить результаты роста на розоловом дифференциальном агаре и глюкозо-пептонной среде (первичный посев). Данные внести

в журнал анализов. Определить титр кишечной палочки по таблицам для расчета коли-титра и результаты отметить в журнале анализов. Оформить результат анализа исследуемой воды.

3. Учесть результаты постановки вторичной бродильной пробы. Данные записать в журнал анализов. Выразить результаты анализа в виде коли-индекса и внести их в журнал. Оформить результат анализа исследуемой воды.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА МИКРОБОВ

Для определения общего количества микробов засеваются такие объемы воды, которые давали бы рост на мясо-пептонном агаре в чашке не менее 30 и не более 300 колоний. Эти объемы могут быть установлены предварительно лишь опытным путем.

Из каждой пробы должно быть использовано для посева не менее двух различных объемов, в зависимости от степени предполагаемого микробного обсеменения воды.

Вода из водопровода, артезианских скважин и шахтных колодцев засевается обычно в объемах 1 и 0,1 *мл*. После фламбирования горлышка бутылки (склянки) и тщательного перемешивания пробы продуванием воздуха через стерильную пипетку отбирают намеченные объемы воды (сначала меньшую дозу, потом большую) и переносят их в стерильные чашки.

При этом крышку чашки приоткрывают так, чтобы в образовавшуюся щель можно было ввести пипетку и равномерно распределить испытуемую воду по дну чашки.

Вода из открытых водоемов (реки, озера) засевается в объемах от 1 до 0,0001 *мл* и меньше. Непосредственный посев объемов менее 0,1 *мл* не допускается.

Чтобы получить объемы исследуемой воды менее 0,1 *мл*, предварительно готовят из нее десятикратные разведения в стерилизованной (в автоклаве) питьевой воде. С этой целью устанавливают в штативе ряд пробирок с 9 *мл* стерильной воды. Затем из пробы воды, доставленной для исследования, после тщательного перемешивания отбирают 1 *мл* и вносят ее в первую (слева в ряду) пробирку с 9 *мл* стерильной воды. При этом нижний конец пипетки не должен прикасаться к стерильной воде. Перемешивание внесенной воды с жидкостью делается другой сухой стерильной пипеткой. Для этого жидкость набирают из нижней части пробирки и выпускают в ее верхнюю часть не менее трех раз, после чего этой же пипеткой набирают 1 *мл* приготовленного разведения и переносят в следующую в ряду пробирку, также не прикасаясь к жидкости. Далее из каждой пробирки после перемешивания переносят в следующие пробирки с 9 *мл* стерильной воды по 1 *мл* предыдущего разведения до получения необходимого разведения. Эти разведения используются как для посева на общее микробное обсеменение, так и для определения коли-титра испытуемой воды. Схема приготовления разведений приведена на рис. 19.

Из двух пробирок с намеченными разведениями отбирают по 1 *мл* воды и каждый объем вносят в отдельную стерильную чашку, предварительно помеченную номером пробы, объемом воды и датой посева.

Для экономии пипеток допускается посев в чашки производить пипеткой, которой приготовлялось наименьшее (последнее справа в ряду) разведение.

Чашки с внесенной водой тотчас же заливают расплавленным и охлажденным до 45°С мясо-пептонным агаром (по 15—20 *мл*)[1], после чего воду, внесенную в чашку, и налитую среду немедленно перемешивают легкими осторожными покачиваниями чашки в противоположных направлениях так, чтобы не смочить края и крышки

Рис 19. Схема приготовления разведений исследуемой воды.

чашки. После этого чашки оставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания среды (на 15—20 минут).

Чашки с застывшей средой помещают в термостат, крышками вниз на 24 часа при 37°С.

При исследовании пробы воды открытого водоема делают в тех же дозах дополнительно посевы, которые выращивают при температуре +20°С в течение 48 часов. Это параллельное исследование дает возможность оценить степень участия в самоочищении водоема сапрофитов.

По истечении срока инкубации производят подсчет с помощью лупы с 5-кратным увеличением. Колонии подсчитывают со стороны дна чашки (отмечая их чернилами), учитывая выросшие как на поверхности, так и в глубине среды.

Если в чашке выросло большое число колоний (около 300), дно чашки расчерчивают на сектора и колонии, подсчитывают в каждом секторе отдельно. Все полученные цифры суммируются. Сум-

[1] Температура расплавленного агара измеряется термометром, погруженным во флакон с водой такого же объема, как и среда. Если имеется возможность, флаконы с агаровой средой вынимают из теплой воды, где она плавилась, и помещают в специальный термостат, отрегулированный на 48—50° С.

ма колоний, выросших на обоих чашках, делится на два. Это и соответствует числу бактерий в 1 *мл* неразведенной воды.

В случае, если вода, засеянная в две чашки, взята из различных разведений одной и той же пробы, необходимо числа, получаемые при подсчете колоний в каждой отдельной чашке, умножить на показатель ее разведения. Затем полученные числа суммируют и делят на 2. В итоге из двух посевов получают среднее число колоний для 1 *мл* исследуемой воды.

Если число колоний, выросших на чашке с наибольшим разведением, превышает 300, то подсчет следует производить на отдельных участках с тем, чтобы колонии были учтены не менее чем на 20 *см*². При этом пользуются камерой для счета колоний ми-

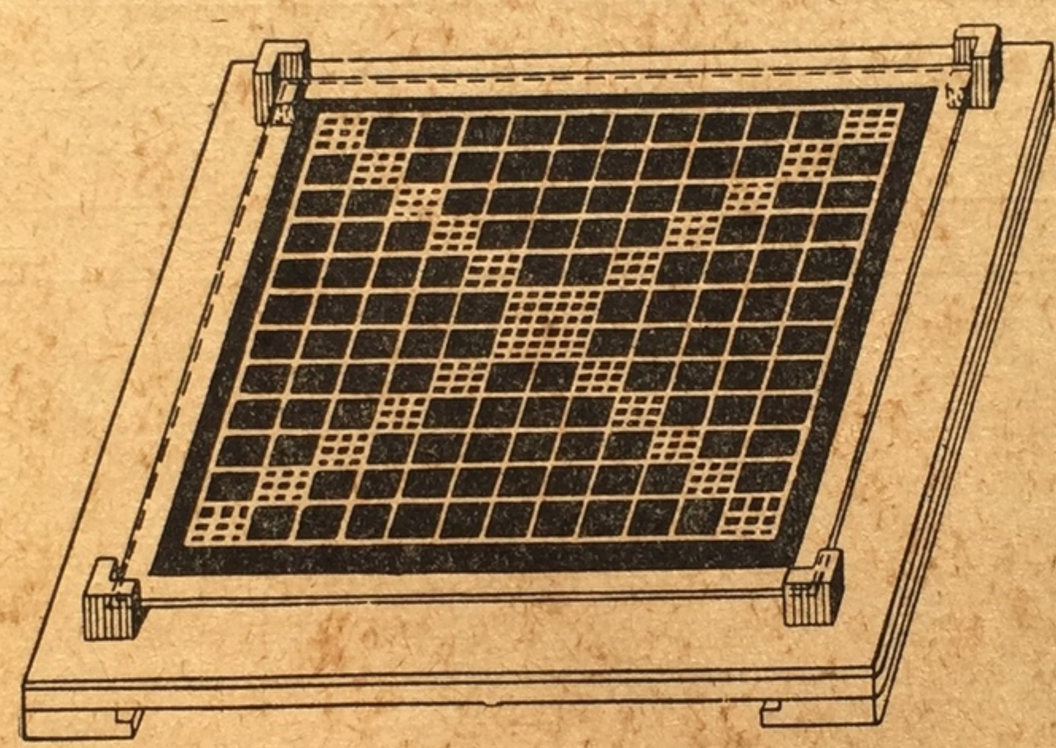


Рис. 20. Камера для счета колоний микробов.

кробов (камера Вольфюгеля), представляющей собой стеклянную пластинку, разделенную на ряд квадратов (144) площадью в 1 *см*²; по диагонали и в центре пластинки каждый из этих квадратов в свою очередь разделен на 9 малых квадратов (рис. 20).

Для подсчета колоний чашку дном вверх накрывают счетной пластинкой. Подсчет колоний производят с помощью лупы при сильном боковом освещении сетки и исследуемой чашки. Считают колонии в 20 квадратах, расположенных в разных местах чашки. При этом в данном квадрате учитывают также колонии, которые расположены на верхней и правой линиях, ограничивающих квадрат.

При отсутствии камеры для счета колоний можно по тому же принципу использовать обычную бумагу. Для этого берут небольшой лист бумаги размером 10 × 10 *см*, вырезают в ней «окошко» величиной в 1 *см*². Бумагу накладывают на дно чашки и на темном фоне считают с лупой колонии на площади «окошка» в 20 разных местах чашки. Полученные числа складывают и выводят среднее арифметическое. Чтобы вычислить количество колоний на всей чашке, полученное среднее число умножают на площадь чашки

(πR^2). Обычно диаметр чашки равен 8,5—10 *см*. При диаметре чашки равном 10 *см*, подставляя соответствующие значения в приведенную выше формулу, получают: $3{,}14 \times 5^2 = 78{,}5$ *см*^{2}.

Например: посеяно 0,1 *мл* воды в чашку с диаметром 10 *см*. При подсчете колоний в 20 квадратах найдено: 12—5—7—10—8—6—4—5—7—9—10—8—4—7—11—5—6—4—5—7 — = 140 колоний. Среднее арифметическое на один квадрат $= \frac{140}{20} = 7$. Так как площадь чашки равна 78,5 *см*^{2} ($3{,}14 \times 5^2$), то количество колоний на всей чашке будет равно ($78{,}5 \times 7$) 449,5. Число 449,5 обозна-

Таблица 19

Расчет общего количества колоний на чашке диаметром 10 *см*

Число колоний (а) в большом квадрате	Число больших квадратов в чашке	Общее число колоний на чашке	Число колоний (а) в малом квадрате	Число малых квадратов в чашке	Общее число колоний на чашке
1	2	3	1	2	3
5 X	78	390	5 X	(78X9) 702	3510
6 X	78	468	6 X	702	4212
7 X	78	546	7 X	702	4914
8 X	78	624	8 X	702	5616
9 X	78	702	9 X	702	6318
10 X	78	780	10 X	702	7020
11 X	78	858	11 X	702	7722
12 X	78	936	12 X	702	8424
13 X	78	1014	13 X	702	9126
14 X	78	1092	14 X	702	9828
15 X	78	1170	15 X	702	10530
16 X	78	1248	16 X	702	11232
17 X	78	1326	17 X	702	11934
18 X	78	1404	18 X	702	12636
19 X	78	1482	19 X	702	13338
20 X	78	1560	20 X	702	14040
21 X	78	1638	21 X	702	14742
22 X	78	1716	22 X	702	15444
23 X	78	1794	23 X	702	16146
24 X	78	1872	24 X	702	16848
25 X	78	1950	25 X	702	17550
26 X	78	2028	26 X	702	18252
27 X	78	2106	27 X	702	18954
28 X	78	2184	28 X	702	19656
29 X	78	2262	29 X	702	20358
30 X	78	2340	30 X	702	21060
31 X	78	2418	31 X	702	21762
32 X	78	2496	32 X	702	22464
33 X	78	2574	33 X	702	32466
34 X	78	2652	34 X	702	23868
35 X	78	2730	35 X	702	24570
36 X	78	2808	36 X	702	25272
37 X	78	2886	37 X	702	25974
38 X	78	2964	38 X	702	26676
39 X	78	3042	39 X	702	27378
40 X	78	3120	40 X	702	28080

Таблица 20

Расчет общего количества колоний на чашке диаметром 9 *см*

Число колоний (а) в большом квадрате	Число больших квадратов в чашке	Общее число колоний на чашке	Число колоний (а) в малом квадрате	Число малых квадратов в чашке	Общее число колоний на чашке
1	2	3	1	2	3
5 X	64	320	5 X	(64X9) 576	2880
6 X	64	384	6 X	576	3456
7 X	64	448	7 X	576	4032
8 X	64	512	8 X	576	4608
9 X	64	576	9 X	576	5184
10 X	64	640	10 X	576	5760
11 X	64	704	11 X	576	6336
12 X	64	768	12 X	576	6912
13 X	64	832	13 X	576	7488
14 X	64	896	14 X	576	8064
15 X	64	960	15 X	576	8640
16 X	64	1024	16 X	576	9216
17 X	64	1088	17 X	576	9792
18 X	64	1152	18 X	576	10368
19 X	64	1216	19 X	576	10944
20 X	64	1280	20 X	576	11520
21 X	64	1344	21 X	576	12096
22 X	64	1408	22 X	576	12672
23 X	64	1472	23 X	576	13248
24 X	64	1536	24 X	576	13824
25 X	64	1600	25 X	576	14400
26 X	64	1664	26 X	576	14976
27 X	64	1728	27 X	576	15552
28 X	64	1792	28 X	576	16128
29 X	64	1856	29 X	576	16704
30 X	64	1920	30 X	576	17280
31 X	64	1984	31 X	576	17856
32 X	64	2048	32 X	576	18432
33 X	64	2112	33 X	576	19008
34 X	64	2176	34 X	576	19584
35 X	64	2240	35 X	576	20160
36 X	64	2304	36 X	576	20736
37 X	64	2368	37 X	576	21312
38 X	64	2432	38 X	576	21888
39 X	64	2496	39 X	576	22464
40 X	64	2560	40 X	576	23040

чает количество колоний, выросших при посеве 0,1 *мл* испытуемой воды. В 1 *мл* этой пробы воды их должно быть 449,5 × 10 = 4495.

Таким же образом осуществляется подсчет колоний и на второй чашке с посевом того же объема воды этой пробы. Из суммы колоний, найденных на двух чашках, находят среднее арифметическое число, выражающее общее количество бактерий в 1 *мл* испытуемой воды.

В практике работы лаборатории Украинского института коммунальной гигиены в целях экономии времени используются расчетные таблицы по учету микробного числа (таблицы 19 и 20). Эти

таблицы рассчитаны для чашек диаметром в 10 и 9 *см*. При расчете упомянутых таблиц для удобства подсчета числа колоний величины площади чашки округлены до целого числа, т. е. 78 и 64 *см*² при диаметре соответственно в 10 и 9 *см* (площадь чашки диаметром 9 *см*, рассчитанная по приведенной выше формуле πR^2, равна 63,58 *см*²).

Правило пользования таблицами следующее. Считают количество колоний в 20 больших квадратах и сумму делят на число подсчитанных квадратов, т. е. определяют среднее арифметическое (а) для одного квадрата. Затем в таблице (19 или 20) в столбце 1 находят соответствующий показатель и рядом в столбце 3 общее количество колоний на площади всей чашки. Найденное число, если засевалась разведенная вода, умножают на показатель ее разведения.

При чрезмерном бактериальном загрязнении пробы (сточная вода, донные отложения) подсчет колоний производят в малых квадратах счетной камеры. Затем по тому же правилу находят общее количество колоний в правой части табл. 19 или 20. Найденное число умножают на показатель разведения воды и получают общее количество микробов в 1 *мл*.

При установлении окончательных результатов общего количества микробов не все засеянные чашки могут быть использованы для подсчета колоний; чашка не учитывается в следующих случаях:

а) если на ней выросло менее 20 колоний при посеве 1 *мл* воды в разведении 1 : 100 и более;

б) если более чем на $^1/_2$ площади чашки отмечается ползучий рост спорообразующих микроорганизмов, маскирующих наличие колоний других бактерий.

Для получения более точных данных по общему количеству микробов целесообразно сопоставлять результаты подсчета колоний, полученные на чашках с посевами воды в разных разведениях. Числа подсчитанных колоний должны примерно соответствовать кратности взятых разведений. Если количество колоний на чашках с посевами из смежных разведений (например, 1 : 10 и 1 : 100) мало между собой разнится (2 : 1, 3 : 1), то это указывает на недостаточное перемешивание воды при приготовлении разведений или может быть обусловлено неравномерным распределением бактерий в воде. В таких случаях общее число микробов в 1 *мл* данной пробы рас-

Выражение результатов подсчета числа колоний

Таблица 21

При количестве колоний в 1 *мл*		Результаты анализа записываются
от 1	до 100	Как найдено при подсчете
от 101	до 1 000	Округляя до ближайшего десятка
от 1001	до 10 000	» » ближайшей сотни
от 10001	до 100 000	» » » тысячи
от 100001	до 1 000 000	» » ближайших 10 000

считывают по количеству колоний, выросших в посеве наименьшего разведения, т. е. в наибольшем объеме исследуемой воды.

С целью более наглядного выражения результатов анализов общее количество колоний, пересчитанное на 1 *мл* воды, регистрируется в журнале в виде округленной цифры в соответствии с требованиями табл. 21.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА НАЛИЧИЕ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

Показателем фекального загрязнения воды служат бактерии группы кишечной палочки. К этой группе относятся микроорганизмы, представляющие собой короткие с закругленными краями грамотрицательные неспороносные палочки, аэробы или факультативные анаэробы, способные сбраживать глюкозу в течение 24 часов при 43°С. На фуксин-сульфитном агаре они растут в виде красных с металлическим блеском колоний, темно-красных и розовых с темным центром колоний (кишечная палочка) или в виде прозрачных с розовым центром и прозрачных неокрашенных колоний (паракишечные палочки).

Наличие в исследуемой воде кишечной палочки и ее разновидностей определяется методом мембранных фильтров или методом бродильных проб, предусмотренных ГОСТом 5216-50-55.

Результаты анализа, как уже отмечалось, выражаются в виде коли-индекса или коли-титра.

Метод мембранных фильтров

Преимущество этого метода заключается в том, что он позволяет концентрировать микрофлору при небольшом ее содержании в воде, производить прямой подсчет колоний (микробов), характеризующих группу кишечной палочки, выделять отдельных ее представителей в виде чистых культур и в случае необходимости сохранять документальные данные анализа — высушенные мембранные фильтры с выросшими на них колониями. Исследование длится 42—48 часов.

Фильтровальные аппараты. Для выполнения анализа воды методом мембранных фильтров необходимо иметь фильтровальный аппарат Рублевской водопроводной станции или прибор Зейтца (рис. 21) и мембранные ультрафильтры.

Фильтровальный аппарат Рублевской водопроводной станции состоит из двух частей. Верхняя часть представляет собой стеклянную воронку емкостью до 600 *мл*. На шейку воронки одето металлическое кольцо с двумя пазами (углублениями). Нижняя часть аппарата — металлический фильтровальный столик — имеет два выступа в форме части винтовой резьбы и керамическую пористую пластинку, на которую при фильтровании помещается мембранный фильтр.

При монтировании аппарата нижняя часть его — фильтровальный столик — укрепляется посредством резиновой пробки в гор-

лышке колбы Бунзена, а последняя толстостенной резиновой трубкой соединяется с каким-либо насосом для создания в колбе вакуума, ускоряющего процесс фильтрации. Верхняя часть аппарата — стеклянная воронка — фиксируется на столике в рабочем положении при помощи кольца. Для этого шлифованной поверхностью шейки воронки прижимают края мембранного фильтра, положенного в центре столика, и поворотом кольца закрепляют на нем воронку, причем выступы столика должны плотно войти в соответствующие им по размерам пазы кольца шейки воронки. При работе воронка аппарата покрывается крышкой (жестяной пластиной).

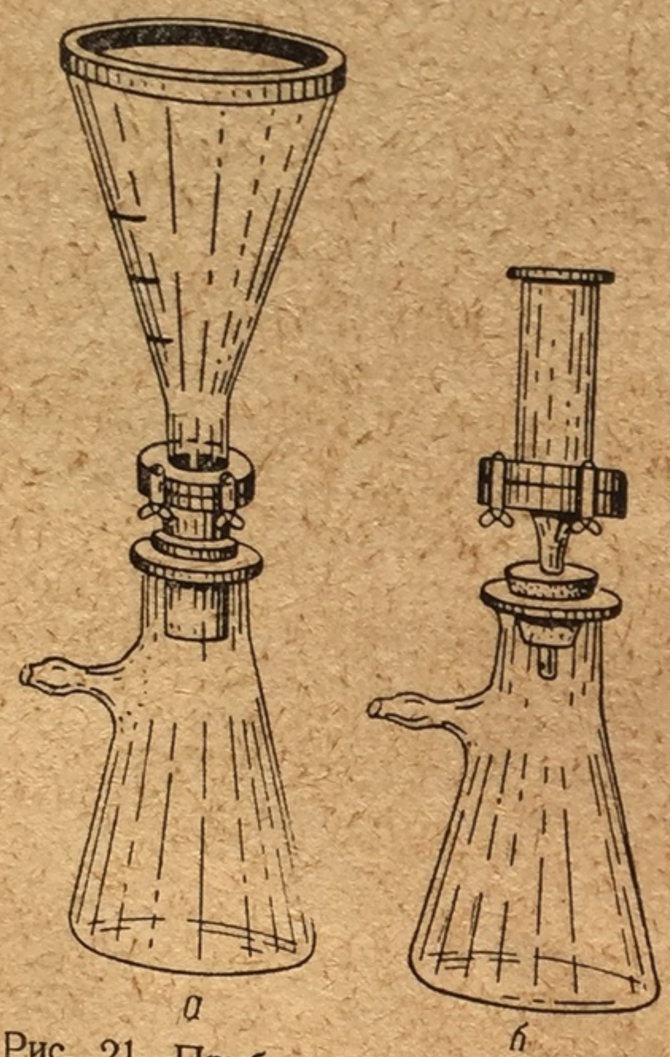


Рис. 21. Приборы для фильтрации через мембранные фильтры:
а — аппарат Рублевской станции; *б* — аппарат Зейтца;

Из насосов наиболее употребительными являются водоструйный насос, комбинированный масляный насос системы Комовского, а также небольшие электрические отсасывающие насосы. В экспедиционных условиях можно пользоваться небольшим школьным комбинированным насосом Шинца. Небольшие дозы воды можно просасывать ртом.

Мембранные фильтры. Мембранные фильтры представляют собой пористые нитроцеллюлозные пленки диаметром в 35 *мм* и толщиной около 0,1 *мм*, с различной проницаемостью для воды. По внешнему виду они напоминают тонкую белую бумагу.

Крупнопористые фильтры характеризуются высокой водопроницаемостью, мелкопористые имеют низкую водопроницаемость. В зависимости от степени водопроницаемости они имеют следующую нумерацию: № 1, 2, 3, 4, 5. Самый плотный из них обозначается номером первым (№ 1). Кроме перечисленных пяти номеров, выпускаются так называемые «предварительные фильтры», предназначенные для освобождения воды от грубо взвешенных в ней частиц.

В практике санитарно-бактериологического исследования воды преимущественно применяются фильтры № 3 со средним диаметром пор равным 0,7μ. Фильтры № 4, 5 и «предварительные» для санитарно-бактериологического анализа воды не пригодны.

Мембранные фильтры сохраняются в сухом виде. При этом необходимо соблюдать осторожность ввиду их легкой воспламеняемости.

Необходимые надписи на мембранных фильтрах делаются на «воздушной» (матовой) поверхности графитовым карандашом.

Подготовка фильтров для анализа. Вынутые из фаб

ричной упаковки фильтры проверяют на отсутствие явных дефектов (трещин, отверстий), помещают в фарфоровую чашку или химический стакан с дистиллированной водой, дважды прогревают при 60°С (по показанию термометра) по 20 минут, сменяя каждый раз воду для удаления остатков растворителей, применявшихся при изготовлении фильтров. Затем фильтры стерилизуют кипячением в дистиллированной воде в течение 20 минут. Кипение должно быть ровным и умеренным (на небольшом огне) во избежание скручивания фильтров и разрушения их структуры.

В том случае, когда фильтры будут немедленно использованы для работы, вода после кипячения не сливается, сосуд прикрывается крышкой.

Если фильтры не употребляются немедленно, а обрабатываются для использования в ближайшее время, то после кипячения их раскладывают по одному на чистой белой бумаге для просушивания. Хорошо высушенные фильтры снова собирают в пачки по 100 штук, завертывают в стерильные марлевые салфетки и хранят в тех же коробках с отметкой «обработаны».

Перед употреблением такие фильтры снова кипятят в дистиллированной воде в течение 20 минут, как описано выше.

Подготовка фильтровального аппарата для анализа. Рабочая часть фильтровального аппарата, с которой входит в соприкосновение вода или фильтр, стерилизуется обжиганием спиртовым пламенем. Для этого тампоном из белой гигроскопической ваты, обильно смоченным ректификованным 96° спиртом, тщательно протирают и одновременно фламбируют поверхность фильтровального столика с находящейся в центре его керамической пластинкой, а также внутреннюю и нижнюю поверхность стеклянной воронки, фиксирующую мембранный фильтр в центре столика. Вначале обжигается поверхность фильтровального столика и керамической пластинки, а затем — внутренняя поверхность воронки и ее нижняя часть с прикрывающей воронку крышкой.

После стерилизации аппарата немедленно гладким обожженым пинцетом извлекают из остывшей дистиллированной воды стерильный мембранный фильтр, захватывая его за край, и укладывают в центр фильтровального столика на керамическую пластинку. При наложении фильтра его «зеркальная» сторона должна лежать на керамической пластинке столика, а матовая поверхность обращена кверху. Фильтр прижимают к столику стерильной воронкой и закрепляют ее металлическим кольцом.

При пользовании прибором Зейтца, во избежание повреждений мембранного фильтра металлической сеткой, необходимо под фильтр подложить стерильный кружок из фильтровальной бумаги, смоченной стерильной водой, и осторожно зафиксировать фильтр верхней частью прибора.

Фильтрация воды и выращивание посевов. В воронку фильтровального прибора, соблюдая правила асеп-

тики, наливают исследуемый объем воды, после чего создают вакуум в приемном сосуде.

Объем фильтруемой воды должен быть таким, чтобы на фильтре вырастало не более 50 колоний кишечных палочек.

Водопроводную воду Москвы и Ленинграда, подаваемую в сеть, и воду артезианских скважин фильтруют в объеме 500 *мл*; водопроводную воду других городов и воду централизованных источников питьевого водоснабжения — в объеме 300—500 *мл*.

Общий объем фильтруемой воды открытых водоемов определяется предполагаемой степенью ее загрязнения: воды чистых участков рек, водохранилищ, озер — 100, 10, 1 и 0,1 *мл*. Вода загрязненных участков рек фильтруется в объемах от 10 до 0,0001 *мл*.

Фильтруют сначала меньшие, а затем большие объемы воды.

При фильтрации малых объемов (1 *мл* и меньше) в воронку предварительно наливают около 10 *мл* стерильной воды, а затем туда же вносят пипеткой исследуемую воду (неразведенную или в разведении) в количестве 1 *мл*. При этом используются разведения, приготовленные для учета микробного числа (см. выше).

Ориентировочные схемы дробления пробы воды на объемы для фильтрации через отдельные фильтры при анализе ее на наличие микробов группы кишечной палочки приведены в таблице 22.

Таблица 22

Схема дробления пробы воды на отдельные объемы при анализе воды на фекальное загрязнение методом мембранных фильтров (по А. С. Разумову)

Типы исследуемых водоисточников	Характеризуемый общий объем воды в *мл*	Предполагаемые		Фильтруемые через отдельные фильтры объемы в *мл*
		коли-индекс	коли-титр	
Загрязненные районы рек и озер. Неблагоустроенные колодцы, некаптированные ключи, родники и т. д. в населенных районах	0,01—10	100—5 000 000	10—0,0003	0,1; 1; 10
Чистые районы рек, протекающих в малонаселенных местах, незагрязненные районы озер, прудов, водохранилищ	1—100	10—50 000	100—0,02	1; 10; 100
Нецентрализованные источники питьевого водоснабжения (колодцы, ключи, родники и т. п.)	100—300	3—5000	300—0,2	10; 100; 100, 100;
Артезианские скважины. Водопроводная вода, подаваемая в городскую сеть. Дезинфицированная или стерилизованная вода	300—500	<3	>300	100; 100; 100

По окончании фильтрации снимают воронку прибора и несколько увеличивают вакуум 5—6 движениями насоса. Это необходимо для подсушивания нижней поверхности мембранного фильтра.

Затем осторожно, захватив тонким обожженным пинцетом мембранный фильтр за его край, переносят в чашку и накладыват его накатом на поверхность фуксин-сульфитного агара (Эндо), избегая образования пузырьков воздуха между поверхностью среды и фильтра. Фильтр укладывают на среду в том положении, в каком он находился на фильтровальном столике, т. е. поверхность с задержанными на ней микробами должна быть обращена вверх, а противоположная сторона плотно должна прилегать к среде.

В одну чашку обычно помещают 4 фильтра с различными дозами профильтрованной воды одной пробы. Надпись (номер анализа и объем профильтрованной воды) удобно сделать чернилами по стеклу или черной тушью на крышке чашки над каждым фильтром, предварительно разделив крышку на 4 сектора. Чтобы надпись соответствовала каждому фильтру, чашка, сбоку по крышке и дну, прочерчивается карандашом по стеклу в вертикальном направлении.

При посеве загрязненной воды для подавления роста сапрофитов, иногда заглушающих рост кишечной палочки, рекомендуется в среду Эндо перед разливом в чашки прибавить на 100 *мл* среды от 0,05 до 0,1 *мл* (90% жидкой перегнанной бесцветной карболовой кислоты[1]). Чашки с наложенными на поверхность фуксин-сульфитной среды фильтрами дном вверх помещают в термостат при температуре 37°С на 18—24 часа.

По истечении срока инкубации производят просмотр чашек, пользуясь лупой. При отсутствии на фильтрах колоний, подозрительных для группы кишечной палочки, дается отрицательный окончательный ответ на наличие фекального загрязнения испытуемой воды в соответствии с суммарной дозой посева. Анализ на этом прекращается.

При наличии на фильтрах колоний, характерных для группы кишечной палочки (см. выше), производят подсчет их, пользуясь лупой, и с каждого фильтра подвергают выборочному микроскопическому изучению 2—3 колонии, типично окрашенные и бесцветные. В случае исследования хлорированной воды микроскопическому изучению необходимо подвергать все выросшие на фильтрах формы колоний. При этом из каждой колонии готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Отсутствие в мазках грамотрицательных неспороносных палочек позволяет дать окончательный отрицательный ответ на наличие кишечной палочки в исследуемом объеме воды.

При наличии в мазках грамотрицательных неспороносных палочек переходят ко второму этапу исследования — постановке вторичной бродильной пробы.

Опыт показал, что развитие колоний микробов группы кишечной палочки, в условиях достаточной влажности среды и постоянной температуры (не ниже 37°С) в термостате, происходит значительно

---

[1] Для приготовления жидкой 90% карболовой кислоты к бесцветным кристаллам ее добавляют 10% (по весу) свежепрокипяченной дистиллированной воды.

быстрее, чем колоний посторонних микробов. Иногда характерные колонии оказываются вполне развитыми уже через 12—16 часов после посева. Учитывать такие колонии поэтому надо именно в это время, так как на исходе суток фильтр может покрыться сплошным налетом сапрофитной микробной флоры, свойственной загрязненной воде.

Наиболее характерным показателем свежего фекального загрязнения считается кишечная палочка, образующая на фильтре при выращивании на фуксин-сульфитном агаре красные с металлическим блеском колонии. При этом на противоположной стороне фильтра появляется отпечаток красного цвета («реверзум»), а в глубине среды на месте расположения такой колонии — красное пятно. Наличие в посеве колоний с «реверзум» настолько типично для кишечной палочки, что позволяет учитывать их даже без микроскопического изучения.

Вторичная бродильная проба. Из подвергшихся микроскопическому изучению колоний, образованных грамнегативными палочками, отбирается петлей остаток материала и засевается в бродильные пробирки с поплавками, содержащие по 10 *мл* разведенной глюкозо-пептонной среды (посев из каждой колонии делается в отдельную пробирку). Посевы инкубируют в термостате при температуре 43°С в течение 24 часов, после чего производят учет результатов вторичной бродильной пробы.

Вторичная бродильная проба позволяет установить, действительно ли выделенный на фуксин-сульфитной среде микроорганизм относится к группе кишечной палочки или он является непоказательным в санитарном отношении (кишечная палочка холоднокровных).

Отсутствие газообразования в посевах вторичной бродильной пробы дает право на окончательный отрицательный ответ в отношении присутствия в исследуемой пробе воды бактерий группы кишечной палочки. Наличие газообразования в среде позволяет дать окончательный положительный ответ в отношении обнаруженного фекального загрязнения исследуемой воды.

Учетом результатов вторичной бродильной пробы исследование воды методом мембранных фильтров заканчивается (рис. 22). Окончательные результаты анализа выражаются в виде коли-индекса. Для этого суммируют количество колоний кишечных палочек, выросших на мембранных фильтрах. Перечисляя это количество на количество их в 1 *л* воды, высчитывают коли-индекс.

Например, из одной пробы воды профильтровано три ее объема — 100; 100 и 100 *мл*. На первом фильтре выросло 8 колоний кишечной палочки. На втором фильтре — 12 колоний и, наконец, на третьем фильтре выросло 10 колоний микробов группы кишечной палочки. Всего профильтровано 300 *мл* воды; выросло 30 колоний микробов, следовательно, коли- индекс равен (1000 × 30) : 300 = 100, а коли-титр — 1000 : 100 = 10.

В практике бывают случаи, когда невозможно подсчитать количество колоний кишечной палочки на фильтрах, через которые

профильтрованы большие объемы воды вследствие сплошного роста. В то же время поддаются учету колонии, выросшие на фильтрах, через которые фильтровались меньшие объемы. В таких случаях коли-титр вычисляют путем деления суммы объемов воды, в которых колонии кишечной палочки поддаются учету, на число колоний этих бактерий в тех же объемах воды.

В тех случаях, когда фильтры, пропустившие большие объемы воды, сплошь заросли сапрофитной микрофлорой, а на фильтрах после фильтрации малых объемов колонии кишечной палочки не обнаружены, анализ воды необходимо повторить. При повторном

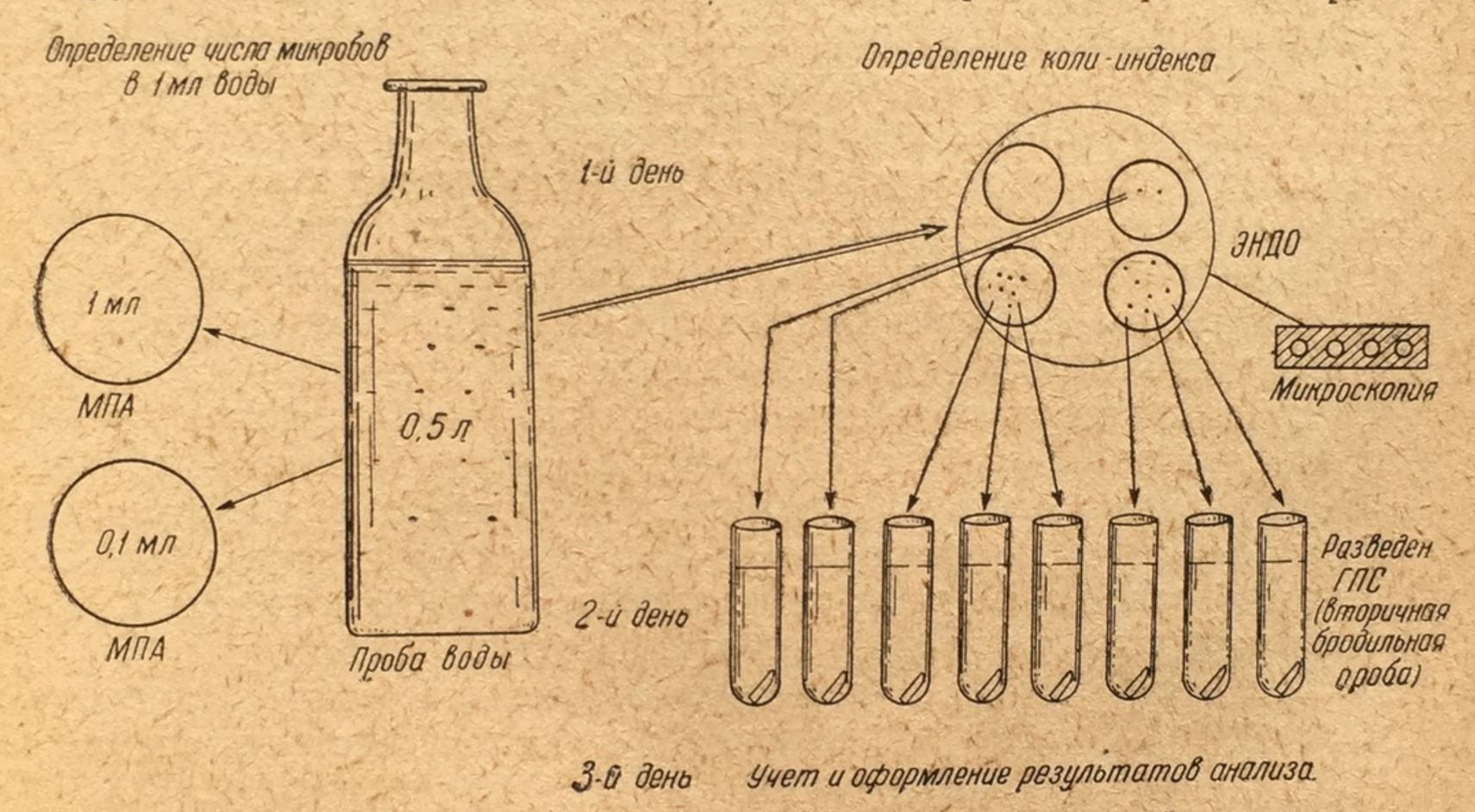


Рис. 22. Схема санитарно-бактериологического исследования питьевой воды методом мембранных фильтров.

исследовании лучше воспользоваться бродильным методом. Если же вторично применяется метод мембранных фильтров, то следует фильтровать воду водопроводов в объемах 4 × 50; 4 × 25; 1 × 10 и 1 × 1 *мл*, а воду колодцев в объемах 2 × 25; 6 × 10; 1 × 1 и 1 × 0,1 *мл*.

При анализе воды грунтовых колодцев вследствие больших колебаний количества кишечных палочек с целью экономии времени, фильтров и питательных сред С. Л. Петрович предлагает фильтровать воду в объемах 300,0; 30,0; 3,0 и 0,3 *мл*. При этом колонии, выросшие на фильтрах, не подсчитывают, а ограничиваются указанием наличия или отсутствия роста кишечной палочки в каждом профильтрованном объеме воды. Учет коли-титра в данном случае производят, пользуясь табл. 23 (ГОСТ 5216-50), приведенной ниже.

Двухфазный бродильный метод

Государственным общесоюзным стандартом, помимо метода мембранных фильтров, предусмотрено на равном основании выполнение анализа двухфазным бродильным методом.

Этот метод предложен М. Г. Киченко и введен в ГОСТ 5216-50 в 1955 г. вместо классического трехфазного метода постановки бродильных проб. Он включает два этапа; анализ длится 24—36 часов.

I-й этап — накопление бактерий группы кишечной палочки. Вопрос о том, какие объемы воды следует засеять в бродильные сосуды с глюкозо-пептонной средой Эйкмана, решается на основании сведений о санитарном состоянии обследуемого водоисточника и предполагаемой степени фекальной загрязненности воды в соответствии с приводимыми ниже таблицами 23—29.

Посев воды в количестве 500 *мл* (центральное водоснабжение, артезианские скважины) производится следующим образом: 4 объема по 100 *мл* засевают во флаконы с 10 *мл* концентрированной глюкозо-пептонной среды и 10 объемов по 10 *мл* засевают в пробирки с 1 *мл* той же среды в такой же концентрации (табл. 23). При исследовании воды в количестве 300 *мл* засевают 2 объема по 100 *мл* во флаконы с 10 *мл* концентрированной глюкозо-пептонной среды и 10 объемов по 10 *мл* в пробирки с 1 *мл* такой же среды (табл. 24).

Вода шахтных колодцев засевается в объеме 111,1 *мл*. Из них 100 *мл* воды засевают в один флакон с 10 *мл* концентрированной глюкозо-пептонной среды, 10 *мл* в пробирку с 1 *мл* этой же среды. Объем воды в 1 и 0,1 *мл* засевают в пробирки с 10 *мл* разведенной глюкозо-пептонной среды (табл. 25). При таком посеве для всех объемов исследуемой воды создаются одинаковые оптимальные концентрации ингредиентов питательной среды.

При посеве воды из открытых водоемов засеваются следующие четыре десятикратно убывающие объемные количества исследуемой воды (в *мл*).

а) 100,0; 10,0; 1,0 и 0,1 — из наиболее чистых водоемов (табл. 25);

б) 10,0; 1,0; 0,1 и 0,01 — из более загрязненных водоемов (табл. 26).

в) 1,0; 0,1; 0,01 и 0,001 — из наиболее загрязненных водоемов (табл. 27).

Следует отметить, что непосредственный посев объемов менее 0,1 *мл* не допускается В таких случаях используются те десятикратные разведения исследуемой воды, которые готовились для определения общего количества микробов в 1 *мл*. При этом из каждого разведения отбирают по 1 *мл* испытуемой воды и засевают в пробирки с 10 *мл* разведенной глюкозо-пептонной среды.

Бродильные сосуды с посевом избранных объемов после равномерного распределения среды в засеянной воде (осторожным вращением сосудов) помещают в термостат при 43°С на 24 часа. При этой температуре микроорганизмы группы кишечной палочки способны достаточно хорошо размножаться, тогда как рост сопутствующей им сапрофитной микрофлоры воды подавляется. Этим самым создаются благоприятные условия для накопления и последующего выделения из первичного посева микробов группы кишечной палочки.

2-й этап — выявление бактерий группы кишечной палочки. Через 7—12 часов выращивания производят просмотр посевов на глюкозо-пептонной среде и отмечают в журнале результаты роста (муть, газообразование). Независимо от наличия признаков роста из всех бродильных сосудов производят пересев на розоловый дифференциальный агар (РДА). При этом материал из среды накопления (ГПС) захватывают петлей с крупным ушком, переносят в пробирку с РДА, слегка растирают в конденсационной жидкости, делают укол в столбик на $^3/_4$ его высоты и при извлечении петли проводят ею штрих по скошенной поверхности среды.

Пробирки с пересевами на РДА помещают в термостат при температуре 37°С на время до 24 часов от момента посева воды в сосуды с глюкозо-пептонной средой.

Посевы в бродильных сосудах на ГПС после пересевов из них на РДА не уничтожают, а продолжают выращивать до 20—24 часов при температуре 43°С (могут потребоваться в дальнейшем для повторных пересевов).

В том случае, когда не требуется особой срочности в производстве анализа, пересев с глюкозо-пептонной среды на РДА можно делать не через 7—12 часов, а позднее, но не позже чем через 24 часа. Если пересев с глюкозо-пептонной среды на РДА делается через 16—18 часов, то дальнейшее выдерживание бродильных сосудов с ГПС в термостате не производится.

В случае, когда при пересеве через 7—12 часов на РДА рост микробов отсутствует, а в глюкозо-пептонной среде через 12 часов с момента посева появляются признаки роста (муть и газообразование или только муть), необходимо из этих бродильных сосудов вновь сделать пересев на РДА и выращивать его 10—12 часов при 37°С.

По истечении срока выращивания просматривают посевы на глюкозо-пептонной среде и розоловом дифференциальном агаре, отмечая признаки обнаружения бактерий группы кишечной палочки. Результаты вносят в журнал анализов.

Признаки обнаружения бактерий группы кишечной палочки на ГПС и РДА:

а) Кишечная палочка

Результат считается положительным, если:

на ГПС	на РДА
имеется рост — муть и газообразование или только муть.	1) на скошенной поверхности вырастают изолированные желтые колонии или рост в виде желтого штриха на пожелтевшей среде; 2) столбик среды окрашен в желтый цвет, с разрывами, конденсационная жидкость вспенена; 3) в мазках грамотрицательные короткие неспороносные палочки.

б) Паракишечные палочки

Результат считается положительным, если:

на ГПС	на РДА
имеется рост—муть и газообразование или только муть.	1) на скошенной поверхности среды вырастают серые колонии или рост в виде серого штриха; 2) цвет среды в скошенной части не изменяется или появляется малиновый оттенок в результате образования щелочи за счет глубокого расщепления пептона бактериями; 3) в столбике среда желтого цвета с разрывами, вспенивание конденсационной жидкости; 4) в мазках грамотрицательные короткие неспороносные палочки.

в) Кишечная палочка в воде после хлорирования

Результат считается положительным, если:

на ГПС	на РДА
имеется рост — муть и газообразование или только муть.	1) вырастают серые колонии, не изменяющие цвета среды и не дающие газообразования; 2) палочки в мазках грамотрицательные, короткие, неспороносные и при микроскопировании раздавленной капли из конденсата слабоподвижные. Это указывает на глубокие изменения свойств кишечной палочки под влиянием действия хлора.

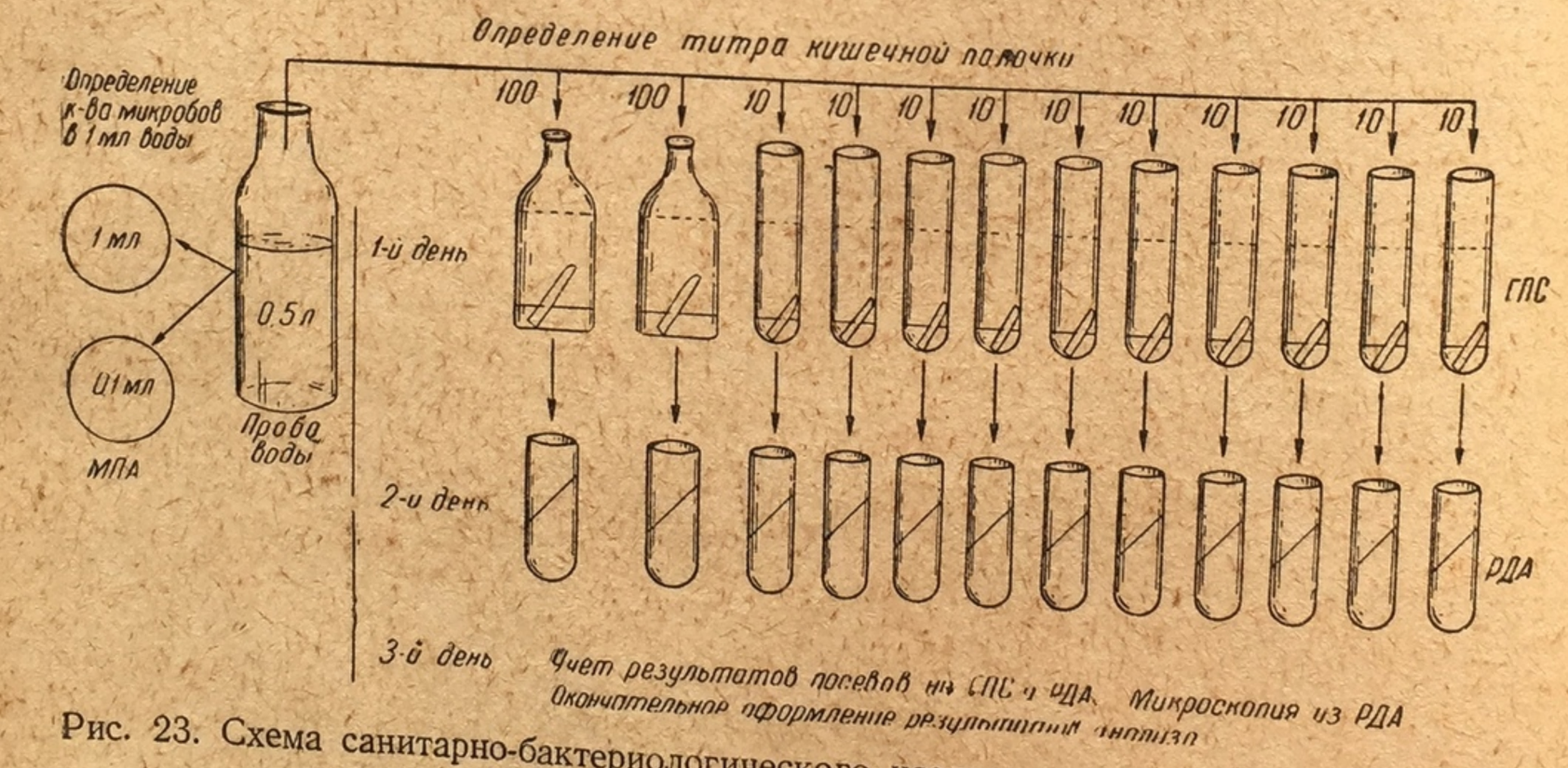


Рис. 23. Схема санитарно-бактериологического исследования питьевой воды двухфазным бродильным методом.

Результат считается отрицательным, если в глюкозо-пептонной среде имеется муть и газообразование или только муть, но розоловый дифференциальный агар при этом не изменяется.

Схема санитарно-бактериологического исследования питьевой воды двухфазным бродильным методом представлена на рис. 23.

Учет результатов анализа и их регистрация

Учет результатов анализа производится в соответствии с таблицами расчета коли-титра и коли-индекса, составленными на основании математической теории вероятности.

Пользование этими таблицами требует навыков и соблюдения определенных правил, которые подробно излагаются ниже.

По окончании анализа в таблице, по схеме которой производился посев воды, находят графы, соответствующие полученным результатам, и определяют, какому коли-титру и коли-индексу эти результаты отвечают. Для иллюстрации остановимся на некоторых частных случаях.

Правило пользования табл. 23 при схеме посева 4 объемов по 100 *мл* и 10 объемов по 10 *мл* (общий объем 500 *мл*) следующее: на месте пересечения вертикального левого ряда (количество положительных объемов по 10 *мл*), например 5, с горизонтальным верхним рядом (количество забродивших сосудов по 100 *мл*), например 2, находят значение коли-индекса — 20 и коли-титра — 50 и т. д. Найденные показатели и заносят в журнал анализов.

Таблица 23

Расчет коли-титра для воды артезианских скважин и водопровода г. Москвы

Общий объем 500 *мл* (4 объема по 100 *мл* и 10 объемов по 10 *мл*)

Количество положительных объемов по 10 *мл*	Количество положительных объемов по 100 *мл*									
	0		1		2		3		4	
	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр
0	менее 2	более 500	2	500	5	200	9	111	16	62
1	2	500	5	200	8	125	13	77	22	46
2	4	250	7	143	11	91	17	59	30	33
3	6	167	9	111	14	71	21	48	38	26
4	8	125	12	83	17	59	26	38	53	19
5	11	91	15	67	20	50	31	32	70	14
6	13	77	17	59	24	42	37	27	92	11
7	15	67	20	50	28	36	44	23	120	8
8	17	59	23	43	32	31	52	19	161	6
9	20	50	26	38	37	27	60	17	230	4
10	22	46	29	35	41	24	69	14	более 230	менее 4

Условие пользования табл. 24 при схеме посева 2 объемов по 100 *мл* и 10 объемов по 10 *мл* (общий объем 300 *мл*) является аналогичным предыдущему. Например, положительные результаты дали 1 объем по 100 *мл* и 7 объемов по 10 *мл*. В данном случае на месте пересечения вертикального ряда, находящегося под числом забро-

дивших объемов по 100 *мл* (1), с горизонтальным рядом числа забродивших сосудов по 10 *мл* (7), находят показатель коли-индекса — 43 и коли-титра — 23.

Таблица 24

Расчет коли-титра для воды водопроводов и грунтовых колодцев

Общий объем 300 *мл* (2 объема по 100 *мл* и 10 объемов по 10 *мл*)

Количество положительных объемов по 10 *мл*	Количество положительных объемов по 100 *мл*					
	0		1		2	
	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр
0	менее 3	более 333	4	250	11	91
1	3	333	8	125	18	56
2	7	143	13	77	27	37
3	11	91	18	56	38	26
4	14	71	24	42	52	19
5	18	56	30	33	70	14
6	22	45	36	28	92	11
7	27	37	43	23	120	8
8	31	32	51	20	161	6
9	36	28	60	17	230	4
10	40	25	69	14	более 230	менее 4

Правило пользования табл. 25, 26 и 27 несколько отличается от способа, описанного выше. В этом случае на левой половине таблицы, соответствующей дозам засеянной воды, находят ту горизон-

Таблица 25

Расчет коли-титра для воды шахтных колодцев и открытых водоемов

(рек, озер, прудов, и т. д.)

Общий объем 111,1 *мл* (объемы: 100,0; 10,0; 1,0 и 0,1 *мл*)

100	10	1,0	0,1	коли-индекс	коли-титр
—	—	—	—	менее 9,0	более 111
—	—	—	+	9,0	111
—	—	+	—	9,0	111
—	+	—	—	9,5	105
—	—	+	+	18	56
—	+	—	—	19	53
—	—	+	+	22	46
—	+	+	—	23	43
+	—	—	+	28	36
—	+	+	+	92	11
+	—	—	—	94	10
+	—	—	+	180	6
+	—	+	—	230	4
+	—	+	+	960	1
+	+	—	—	2380	0,4
+	+	—	+	более 2380	менее 0,4

Таблица 26

Расчет коли-титра для воды открытых водоемов (рек, озер, прудов и т. д.)
Общий объем — 11,11 *мл* (объемы: 10,0; 1,0; 0,1 и 0,01 *мл*)

10,0	1,0	0,1	0,01	коли-индекс	коли-титр
—	—	—	—	менее 90	более 11,1
—	—	—	+	90	11,1
—	—	+	—	90	11,1
—	+	—	—	95	10,5
—	—	+	+	180	5,6
—	+	—	+	190	5,3
—	+	+	—	220	4,6
+	—	—	—	230	4,3
—	+	+	+	280	3,6
+	—	—	+	920	1,1
+	—	+	—	940	1,0
+	—	+	+	1 800	0,6
+	+	—	—	2 300	0,4
+	+	—	+	9 600	0,1
+	+	+	—	23 800	0,04
+	+	+	+	более 23 800	менее 0,04

Таблица 27

Расчет коли-титра для воды открытых водоемов (рек, озер, прудов и т. д.)
Общий объем 1,111 *мл* (объемы: 1,0; 0,1; 0,01 и 0,001 *мл*)

1,0	0,1	0,01	0,001	коли-индекс	коли-титр
—	—	—	—	менее 900	более 1,11
—	—	—	+	900	1,11
—	—	+	—	900	1,11
—	+	—	—	950	1,05
—	—	+	+	1 800	0,56
—	+	—	+	1 900	0,53
—	+	+	—	2 200	0,46
+	—	—	—	2 300	0,43
—	+	+	+	2 800	0,36
+	—	—	+	9 200	0,11
+	—	+	—	9 400	0,10
+	—	+	+	18 000	0,06
+	+	—	—	23 000	0,04
+	+	—	+	96 000	0,01
+	+	+	—	238 000	0,004
+	+	+	+	более 238 000	менее 0,004

тальную строчку, на которой плюсами и минусами отмечены забродившие объемы. В той же строке справа приведены числовые значения коли-индекса и коли-титра для данной комбинации результата анализа. Например, посеяны объемы — 100,0; 10,0; 1,0 и 0,1 *мл* (схема табл. 25). Кишечная палочка обнаружена в объе-

мах 10,0 и 0,1 *мл*. По схеме этой таблицы находят, что положительные результаты в 10,0 и 0,1 *мл* (+), при отрицательных результатах высева из объемов 100,0 и 1,0 *мл* (—), предусмотрены на 6-й горизонтальной строке сверху. Этой строке, по таблице, соответствует коли-индекс 19 и коли-титр 53.

Чтобы сознательно пользоваться приведенными таблицами, необходимо помнить следующие обстоятельства. Распределение микробов в воде не является равномерным. Оно происходит случайно, вследствие чего здесь применима теория вероятности. Это теория и положена в основу построения таблиц расчета коли-титра и коли-индекса. Вначале может показаться странным, почему при обнаружении кишечной палочки в 0,1 *мл* (приведенный выше пример) коли-титр, согласно табл. 25, является довольно высоким (53 *мл*). Однако, принимая во внимание сказанное выше, это становится понятным. Действительно, хотя кишечная палочка и обнаружена в 0,1 *мл* испытуемой воды, она не найдена в таком большом объеме, как 100 *мл*. Таким образом, ясно, что вода является относительно чистой, а обнаружение кишечной палочки в 0,1 *мл* объясняется случайным попаданием ее в этот объем.

При исследовании воды с небольшими колебаниями коли-титра (водопроводы, грунтовые колодцы) можно пользоваться схемами, приведенными в табл. 28. В таком случае вода артезианских скважин и центральных водопроводов засевается в общих объемах 500 *мл* (5 объемов по 100 *мл*) или 300 *мл* (3 объема по 100 *мл*), а вода

Таблица 28

Расчет коли-титра для воды с небольшими колебаниями содержания кишечных палочек

Общие объемы: 500 (5×100), 300 (3×100) и 100(10×10) *мл*

Общий объем *мл*		Количество положительных объемов										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
500 (5 объемов по 100)	Коли-индекс. Коли-титр	менее 2 более 455	2 455	5 196	9 109	16 62	более 16 62	— —	— —	— —	— —	— —
300 (3 объема по 100)	Коли-индекс. Коли-титр	менее 4 более 250	4 250	11 91	более 11 менее 91	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
100 (10 объемов по 10)	Коли-индекс. Коли-титр	менее 11 более 91	11 91	22 46	36 28	51 20	69 15	92 11	120 8	161 6	230 4	более 230 менее 4

грунтовых колодцев — в объеме 100 *мл* (10 объемов по 10 *мл*) Как указывалось выше, вода шахтных колодцев может подвергаться анализу методом мембранных фильтров по упрощенной схеме, в соответствии с табл. 29. Результат анализа в этом случае учитывают по наличию или отсутствию колоний кишечной палочки (без подсчета) на фильтре после суточной инкубации при 43°С. Во избежание высыхания фуксин-сульфитной среды готовят ее пониженной плотности и чашки перед нанесением фильтров не подсушиваются.

Таблица 29

Расчет коли-индекса и коли-титра при упрощенной схеме исследования воды грунтовых колодцев методом мембранных фильтров

Общий объем 333,3 (300; 30; 3 и 0;3)

Отфильтрованные объемы воды (в *мл*)				Коли-индекс	Коли-титр
300	30	3	0,3		
—	—	—	—	3	333
—	—	—	+	3	333
—	—	+	—	3	333
—	+	—	—	3	315
—	—	+	+	6	168
—	+	—	+	6,5	159
—	+	+	—	7	138
+	—	—	—	8	129
—	+	+	+	9	108
+	—	—	+	30	33
+	—	+	—	31	30
+	—	+	+	60	18
+	+	—	—	77	12
+	+	—	+	320	3
+	+	+	—	793	1,2
+	+	+	+	793	1,2

Пользование расчетными таблицами позволяет давать точные и унифицированные ответы, что является весьма важным при сравнительной оценке результатов анализа.

Ниже приводятся схемы регистрации результатов исследований в журнале санитарно-бактериологических анализов воды (табл. 30). Результаты вносятся в журнал ежедневно, по мере выполнения отдельных этапов анализа. При выполнении анализа методом мембранных фильтров в этот журнал вклеивают снятые со среды Эндо фильтры после их обеззараживания. Фильтры вклеивают фотоклеем, который их не изменяет. (На фильтрах, снятых со среды Эндо, перед обеззараживанием по краю их обозначают № пробы и дозу посева воды простым карандашом).

Для обеззараживания фильтров используют два способа, а именно:

1. Фильтры (снятые со среды Эндо) помещают в чашку Петри, на дне которой находится кружок фильтровальной бумаги. После

Примерная форма журнала санитарно-бактериологического анализа воды

Таблица 30

№ п/п	Дата анализа	№ проб	Кто и откуда прислал пробу	Наименование водоисточника (место отбора пробы)	Время (год, м-ц, число, час)			Определение микробного числа		Определение коли-титра (индекса) воды															Результат анализа			Примечание
					отбора пробы	доставки пробы	посева пробы	дозы посева (в *мл*)	к-во колоний на чашке	Этапы анализа (среды)	Дозы посева в *мл*														коли-титр	коли-индекс	к-во бактерий в 1 *мл*	
172	15. I 1960	25	Пом. санврача Иванов, м. Сквира Киевская обл.	Артезианская скважина	1960 15. I 11-30	1960 15. I 13-00	1960 15. I 14-00	1 0,1 $\frac{78+9 \cdot 10}{2}$	78 9 $=84$		100	100	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10						
										ГПС РДА Микроскопия	мг кг гро	м — —	— — —	— — —	мг кг гро	— — —	— — —	м — —	мг кг гро	— — —	— — —	— — —			77	13	84	
173	17. I 1960	3	Пом. санврача Новикова, с. Нивки Дымерского р-на	Колодец усадьбы Николаева	1960 17. I 11-00	1960 17. I 12-00	1960 17. I 13-20	1 0,1 $\frac{236+25 \cdot 10}{2}$	236 25 $=243$		100	10	1,0	0,1														
										ГПС РДА Микроскопия	м — —	мг кг гро	— — —	мг кг гро											53	19	240	
174	20. I 1960	30	Нач. хоз. части санатория «Светлый» Прохоров	Локальный водопровод санатория (кран колонки)	1960 20. I 12-00	1960 20. I 13-00	1960 20. I 14-20	1 0,1 $\frac{16+2 \cdot 10}{2}$	16 2 $=18$		100	100	100															
										Эндо Микроскопия ГПС (ВБП)	— — —	3 кол крас. гро г(3пр.)	2 кол роз. грп		300 — 3 1000 — X		$X = \frac{3 \cdot 1000}{300} = 10$ или $300 : 3 = 100$								100	10	18	

Обозначения: мг — муть, газообразование; м — муть; кг — кислота, газ; г — газ; гро — грамотрицательные палочки; грп — грамположительные палочки; ГПС — глюкозо-пептонная среда; РДА — розоловый дифференциальный агар; ВБП — вторичная бродильная проба.

Примерная форма журнала санитарно-

№ п.	Дата анализа	№ проб	Кто и откуда прислал пробу	Наименование водоисточника (место отбора пробы)	Время (год, м-ц, число, час)			Определение микробного числа	
					отбора пробы	доставки пробы	посева пробы	дозы посева (в *мл*)	к-во колоний на чашке
172	15. I 1960	25	Пом. санврача Иванов, м. Сквира Киевская обл.	Артезианская скважина	1960 15. I 11-30	1960 15. I 13-00	1960 15. I 14-00	1 0,1 $\frac{78 + 9 \cdot 10}{2}$	78 9 = 84
173	17. I 1960	3	Пом. санврача Новикова, с. Нивки Дымерского р-на	Колодец усадьбы Николаева	1960 17. I 11-00	1960 17. I 12-00	1960 17. I 13-20	1 0,1 $\frac{236 + 25 \cdot 10}{2}$	236 25 =243
174	20. I 1960	30	Нач. хоз. части санатория «Светлый» Прохоров	Локальный водопровод санатория (кран колонки)	1960 20. I 12-00	1960 20. I 13-00	1960 20. I 14-20	1 0,1 $\frac{16 + 2 \cdot 10}{2}$	16 2 = 18

Обозначения: мг — муть, газообразование; м — муть; кг — кислота, газ; ГПС — глюкозо-пептонная среда; РДА — розоловый дифференциальный агар;

Таблица 30

бактериологического анализа воды

Этапы анализа (среды)	Определение коли-титра (индекса) воды: Дозы посева в *мл*												Результат анализа: коли-титр	коли-индекс	к-во бактерий в 1 *мл*	Примечание
	100	100	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10				
ГПС РДА Микроскопия	мг кг гро	м — —	— — —	— — —	мг кг гро	— — —	— — —	м — —	мг кг гро	— — —	— — —	— — —	77	13	84	
ГПС РДА Микроскопия					100 м — —	10 мг кг гро	1,0 — — —	0,1 мг кг гро					53	19	240	
Эндо Микроскопия ГПС (ВБП)	100 — — —	100 3 кол крас. гро г(3пр.)	100 2 кол роз. грп		300 — 3 1000 — X	$X = \frac{3 \cdot 1000}{300} = 10$ или 300 : 3 = 100							100	10	18	

г — газ; гро — грамотрицательные палочки; грп — грамположительные палочки; ВБП — вторичная бродильная проба.

этого на внутреннюю поверхность крышки прикрепляют смоченный в 40% формалине кусочек ваты и крышкой накрывают чашку. Формалин, испаряясь, убивает микробов на фильтрах. В этом случае для полного обеззараживания фильтров требуется не более 5 минут.

2. Снятые со среды Эндо фильтры помещают в сушильный шкаф, в котором температура предварительно доведена до 170—180°С. Затем нагревание шкафа прекращают, выключив его из сети. Фильтры вынимают из шкафа после того, как температура снизится до 40—50°С. Обеззараженные фильтры с результатами посева наклеивают в графе «Примечание» журнала анализов или в отдельной тетради.

Журнал санитарно-бактериологических анализов воды должен быть пронумерован, прошнурован и опечатан печатью учреждения здравоохранения.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ПО БАКТЕРИАЛЬНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Качество воды, подаваемой центральными и локальными водопроводами, должно удовлетворять требованиям ГОСТа 2874-54 («Вода питьевая»).

Бактериальный состав питьевой воды не должен указывать на присутствие в ней патогенных микроорганизмов. Общее число микробов и титр (индекс) кишечной палочки в питьевой воде не должны превышать принятых ГОСТом 2874-54 пределов.

Вода водопроводов считается практически доброкачественной при коли-титре 300 и коли-индексе не более 3. Общее количество микробов в 1 *мл* воды не должно превышать 100. Питьевая вода не должна содержать патогенных микроорганизмов.

Вода артезианских скважин и водопровода г. Москвы и Ленинграда считается доброкачественной при:

коли-титре не менее 500;
коли-индексе не более 2.

Требования упомянутого выше ГОСТа 2874-54 не распространяются на воду, забираемую в порядке индивидуального нецентрализованного пользования непосредственно из местных источников, без разводящей сети.

При оценке качества питьевой воды шахтных колодцев и каптажей родников необходимо пользоваться требованиями, изложенными в «Санитарных правилах планировки, застройки и благоустройства сельских населенных мест», утвержденных Главной Государственной санитарной инспекцией СССР от 26 января 1956 г. за № 202-56 Титр кишечной палочки воды колодцев и родников должен быть не менее 100 (коли-индекс не выше 10). При титре кишечной палочки менее 100, но более 1, вода может быть допущена для питьевых целей при условии ее обеззараживания и улучшения санитарно-технического состояния колодца или каптажа родника. При

титре кишечной палочки менее 1 вода из этих источников для питьевых целей не пригодна. Общее число бактерий в 1 *мл* колодезной воды, учитываемых на мясо-пептонном агаре через 24 часа при 37°С, практически допускается в пределах нескольких сотен (Справочник санитарного врача. Медгиз, 1950, стр. 112).

В соответствии с ГОСТом 2761-57 («Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Правила выбора и оценки качества»), в воде источников, намечаемых к использованию для централизованного водоснабжения с применением только хлорирования, коли-индекс не должен превышать 1000 (при соответствующем коли-титре не менее 1). Вода источников, намечаемых к использованию с полной очисткой и с хлорированием, должна иметь коли-индекс не более 10 000 (при коли-титре не менее 0,1).

Для других источников питьевого водоснабжения аналогичные общеобязательные нормы не установлены.

НЕСТАНДАРТНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИ-ТИТРА ВОДЫ

К нестандартным методам определения коли-титра воды относятся: трехэтапный бродильный метод[1] и метод прямого посева на среду Эндо.

Проведение анализа трехэтапным бродильным методом

Исследование этим методом складывается из трех этапов и длится не более 72 часов.

I-й этап. Первый этап не отличается от первого этапа при двухфазном бродильном методе. Производится посев таких же объемов испытуемой воды в глюкозо-пептонную среду с последующим выращиванием их при температуре 43°С в течение 24 часов.

2-й этап. После 18—24-часовой инкубации все бродильные сосуды вынимаются из термостата и из тех сосудов, в которых появился рост микрофлоры (о чем свидетельствует образование мути или мути и газа), делается высев петлей с малым ушком на чашки с фуксин-сульфитной средой Эндо. Среда предварительно подсушивается при открытом и опрокинутом положении чашек в термостате при 37°С до исчезновения капелек влаги на поверхности среды.

Посев необходимо производить с таким расчетом, чтобы получился рост изолированных колоний. Для этого вначале материал густо втирается на ограниченном участке среды, а затем делаются все более редкие штрихи по ее поверхности. В одной чашке можно произвести высев материала из 4 сосудов, где отмечены признаки роста микрофлоры. При этом чашку со стороны дна делят на сектора. Материал из каждого сосуда засевают на отдельном секторе.

---

[1] Этот метод используется на практике при исследовании воды открытых водоемов.

На каждом секторе, кроме номера пробы и даты исследования, отмечается объем исследуемой воды.

Засеянные чашки помещают в термостат на 16—24 часа при температуре 37°С. При отсутствии роста колоний кишечной палочки дается окончательный отрицательный (—) ответ, и дальнейшее исследование прекращается.

При наличии на среде Эндо колоний, типичных для группы кишечной палочки, — красных с металлическим блеском или без блеска, розовых с темным центром, розовых слизистых, бледно-розовых и бесцветных (не разлагающих лактозу) — приступают к микроскопическому их исследованию (мазок окрашивается по Граму). Выборочно изучают по 2—3 колонии разного типа из каждого объема исследуемой воды. Заключение о наличии бактерий группы кишечной палочки только по внешнему виду колоний, без их микроскопического исследования, недопустимо. В случае обнаружения в препарате смешанной культуры для дальнейшего микроскопического исследования выбирают другие колонии или производят рассев на чашку со средой Эндо с целью получения чистой культуры. При отсутствии в мазках грамотрицательных неспороносных палочек дается окончательный ответ (бактерии группы кишечной палочки не обнаружены).

При обнаружении в мазках коротких грамотрицательных неспороносных палочек переходят к постановке вторичной бродильной пробы.

3-й этап — вторичная бродильная проба. Из колоний, подвергнутых микроскопическому исследованию, берется остаток материала и засевается в пробирки с разведенной глюкозо-пептонной средой (каждая колония вносится в отдельную пробирку). Посевы инкубируются при 43°С в течение 24 часов, после чего учитываются результаты анализа.

Наличие в пробирках вторичной бродильной пробы только мути дает право на окончательный отрицательный ответ. Обнаружение в бродильных пробирках мути и газа указывает на присутствие в пробе воды бактерий группы кишечной палочки, происходящих от теплокровных, что дает право на окончательный положительный ответ. Результаты исследования выражают в виде коли-титра, пользуясь стандартными таблицами (см. выше).

Коли-титр считается не установленным в том случае, если кишечная палочка обнаруживается во всех засеянных объемах воды. При этом можно только констатировать, что коли-титр менее наименьшего объема испытуемой воды. В таких случаях при повторном исследовании воды данного водоисточника необходимо взять для посева добавочно несколько последующих десятикратных разведений, т. е. использовать еще меньшие объемы исследуемой воды.

Установив коли-титр воды, можно произвести перерасчет на коли-индекс и наоборот. В случае, если известен коли-титр (например, коли-титр равен 0,4), делят 1000 на число, выражающее коли-титр и, таким образом, получают пока-

затель коли-индекса (1000 : 0,4 = 2500). Если известен коли-индекс, то для пересчета на коли-титр делят 1000 на число, выражающее коли-индекс (например, 3). В данном случае коли-титр равен 333 (1000 : 3).

Метод прямого посева воды на среду Эндо

Определение коли-титра воды открытых водоемов в местах наиболее интенсивного их загрязнения можно производить методом прямого посева на среду Эндо. Ввиду значительной загрязненности в данном случае количество пробирок с десятикратными разведениями исследуемой воды должно быть значительно большим, чем при исследовании мало загрязненной воды. Обычно степень разведения воды доводят не менее чем до 10^{-6}, что соответствует объему воды в 0,000001 *мл*.

В чашку со средой Эндо вносят 1 *мл* воды из каждого разведения и распределяют равномерно шпаделем по поверхности среды. Посевы инкубируют при 43°С в течение 24 часов. Затем учитывают наличие на поверхности среды Эндо типичных для кишечной палочки колоний, без их подсчета. Наличие или отсутствие роста кишечной палочки отмечают в протоколе анализа соответствующим знаком (+ или —).

Результаты исследований выражают в виде коли-титра, пользуясь таблицами для расчета коли-титра сточной воды (табл. 31, 32, 33).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ПАТОГЕННЫХ МИКРОБОВ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ

Из патогенных микробов кишечной группы в воде чаще всего могут содержаться возбудители брюшного тифа, паратифов и дизентерии. Рекомендуется отбирать для этого исследования 2—3 *л* воды.

Анализ воды на присутствие патогенных микробов указанной группы выполяется в 3 этапа и длится 3—5 дней, в зависимости от метода исследования.

Принцип исследования заключается в концентрации всех микробов, находящихся в исследуемом образце, в возможно малом объеме воды. Концентрация микробов достигается различными методами, в частности осаждением их с образованием хлопчатого осадка или фильтрованием испытуемой воды через мембранные фильтры.

Этапы исследования

1-й этап. Концентрация бактерий методом мембранных фильтров или осаждением химическими веществами.

2-й этап. Посев мембранных фильтров с содержащимися на них

бактериями или полученного осадка на элективные питательные среды и среды накопления.

3-й этап. Отбор подозрительных колоний и определение полученной культуры.

1. КЛАССИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ТИФОЗНО-ПАРАТИФОЗНЫХ И ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ

1-й день. Метод осаждения. Принцип этого метода заключается в следующем: к 1 *л* исследуемой воды добавляется 4 *мл* 10% стерильного раствора соды (Na_2CO_3) и 3,5 *мл* 10% стерильного раствора сернокислой окиси железа ($Fe_2/SO_4/_3$). После прибавления этих ингредиентов пробу воды тщательно встряхивают. Хлопья, образующиеся от прибавления этих растворов, оседают на дно сосуда при отстаивании и увлекают за собой микробы. Процесс осаждения микробов в обработанной пробе продолжается в течение 1 часа (желательно в прохладном месте). Затем прозрачный слой воды осторожно сливают, а оставшийся осадок с небольшим количеством жидкости переносят в стерильные центрифужные пробирки и центрифугируют при 600—700 оборотах центрифуги в минуту в течение 10—15 минут (до получения плотного осадка).

После центрифугирования жидкость над осадком из пробирок сливают, а осадок растворяют в нейтральном 25% стерильном растворе винно-каменнокислого калия ($C_4H_4K_2O_6$). Этот раствор по каплям прибавляют к осадку до полного растворения последнего.

Полученный из осадка раствор засевают на плотные элективные питательные среды соответственно предполагаемому виду микроба, а именно: висмут-сульфит агар для обнаружения бактерий брюшного тифа и паратифа В; Эндо — для бактерий паратифа А; бакто-агар Плоскирева или среду Левина — для бактерий дизентерии. Жидкость, внесенную на поверхность каждой питательной среды в количестве 0,25 *мл*, равномерно распределяют в чашке стерильным шпаделем. После посева чашки помещают в термостат. Для испарения жидкости крышки чашек временно снимают и покрывают их кружка́ми стерильной бумаги. Подсушенные чашки в дальнейшем закрывают крышками и оставляют в термостате дном кверху.

Методом осаждения пользуются при исследовании сильно загрязненных хозяйственно-бытовых сточных вод и воды открытых водоемов.

Метод фильтрации. Пробу воды фильтруют через стерильные мембранные фильтры № 3. В этом случае фильтровальный аппарат должен быть стерильным. Для этого фильтровальный столик, смонтированный на колбе Бунзена, завертывается в бумагу и стерилизуется в автоклаве при 1 атм в течение 20 минут.

Если вода фильтруется медленно вследствие содержания в ней веществ, мешающих фильтрации, то фильтрование производят дроб-

но, используя для одной пробы несколько мембранных фильтров. Пробы воды, содержащие большие количества взвешенных частиц, пропускают через предварительный фильтр.

По окончании фильтрации фильтр снимают пинцетом и помещают в чашку на поверхность плотной элективной среды. Осадок с концентрированными на фильтре бактериями снимают с него шпаделем и им же равномерно распределяют по всей поверхности среды. Затем этим же шпаделем (не обжигая его) производят посев еще на 1—2 чашки с такой же или другой элективной средой. При таком посеве получаются изолированные колонии, что ускоряет процесс выделения чистых культур микробов.

Можно также с мембранных фильтров сделать отпечатки на плотных элективных средах (Эндо, висмут-сульфитный агар, среда Плоскирева или Левина). Фильтры, снятые с плотной среды, после отпечатков помещают в среды накопления (желчный бульон и др.) с последующим высевом на среду Эндо через 24—48 часов. После отпечатков с фильтра материал распределяют шпаделем равномерно по поверхности питательной среды, как описано выше.

Чашки с посевами инкубируют в термостате при 37°С в течение 18—24 часов; посевы на висмут-сульфитном агаре для обнаружения бактерий брюшного тифа выдерживают 36—48 часов. Полученный фильтрат после фильтрования проверяют на стерильность путем посева 1 *мл* в пробирку с мясо-пептонным бульоном.

2-й день. Просматривают выросшие на чашках колонии и отмечают среди них подозрительные: на висмут-сульфитном агаре — черные со светлым или черным ободком с потемнением среды под колонией; на остальных средах — бесцветные, прозрачные, круглые, гладкие, с ровными краями.

Из подозрительных колоний делают отсевы (в возможно большем количестве) на скошенный мясо-пептонный агар и короткий пестрый ряд (пробирки с лактозой и глюкозой). Короткий пестрый ряд с успехом можно заменить средой Ресселя, средой с мочевиной или розоловым агаром. Одновременно те же колонии изучают микроскопически (мазок окрашивают по Граму). При наличии материала ставят пробную агглютинацию на предметном стекле со смесью агглютинирующих сывороток в разведении 1 : 10.

Если на плотных элективных средах имеются только единичные подозрительные колонии, то часть колоний снимают петлей и растирают в конденсационной жидкости пробирки с косым агаром и штрихом проводят по его поверхности. Затем небольшое количество этой жидкости используют для посева на среду Ресселя или другие дифференциальные среды.

Посевы на дифференциальных средах выдерживают в термостате при 37°С в течение 18—24 часов.

При отсутствии подозрительных колоний на плотных элективных средах для получения культуры используют посев материала на жидкой среде накопления. После суточной инкубации из этой среды производят высев на плотные элективные среды.

3-й день. Просматривают посевы на коротком пестром ряду, среде Ресселя, розоловом агаре или среде с мочевиной и скошенном агаре. Отбирают пробирки с культурами, не расщепляющими лактозу. Из капли конденсата отобранной культуры на скошенном агаре готовят препарат «раздавленной капли» для изучения подвижности бактерий и мазок для окраски по Граму. При обнаружении грамотрицательных палочек делают высев этих культур на развернутый пестрый ряд (глюкоза, маннит, мальтоза, сахароза) для определения сахаролитической активности и на бульон (желательно Хоттингера) для обнаружения сероводорода и индола. С этой целью в пробирку с засеянным бульоном помещают под пробку соответствующие индикаторные бумажки. Посевы инкубируют 24 часа при 37°С.

4-й день. Учитывают результаты посева в развернутом пестром ряду и отмечают наличие или отсутствие образования кислоты или кислоты и газа на средах с углеводами, индола и сероводорода в бульоне. Если требуется, повторно проверяют подвижность бульонной культуры.

Культуры, сбраживающие глюкозу, маннит, мальтозу и иногда сахарозу с образованием кислоты и газа, образующие индол и сероводород при росте на бульоне, дальнейшему изучению не подлежат.

Все остальные культуры на скошенном агаре используют для постановки пробной реакции агглютинации на стекле. При этом выбирают сыворотки, соответствующие виду микроба по морфобиологическим и культуральным признакам.

С культурами, давшими агглютинацию на стекле с несколькими сыворотками, ставят развернутую реакцию агглютинации до титра по обычно принятой для данной группы микробов схеме.

Развернутая агглютинация выдерживается в термостате при 37°С 2 часа. После этого производят предварительный учет результатов реакции. Затем оставляют ее при комнатной температуре на 18—20 часов.

5-й день. Производят окончательный учет реакции агглютинации и, сопоставляя полученные данные, оформляют результат анализа.

2. УСКОРЕННЫЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ТИФОЗНО-ПАРАТИФОЗНЫХ И ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ

(применительно к инструкции, утвержденной Министерством здравоохранения СССР от 27. VI. 1955 г.).

Анализ питьевой воды на наличие патогенных микробов кишечной группы, согласно требованию упомянутой инструкции, продолжается 3 дня. При этом несколько сокращается время для выделения изучаемой культуры, но не уменьшается количество определений для ее характеристики.

1-й день. Исследуемую пробу воды в объеме 1—3 *л* фильтруют через мембранные фильтры № 3. Фильтрат проверяют на стерильность методом посева.

Фильтры с собранным на них осадком помещают на элективные среды (Эндо, висмут-сульфитагар, бактоагар П или Левина). Осадок снимают с фильтра шпаделем и распределяют равномерно по поверхности каждой питательной среды. Посевы выдерживают в течение 18—24 часов в термостате при 37°С (чашки с висмут-сульфитным агаром оставляют в термостате на 36—48 часов).

2-й день. Просматривают рост на чашках. Из колоний, подозрительных на патогенные виды микробов (см. выше), делают отсев одновременно в пробирки со скошенным агаром и мясо-пептонным бульоном, предварительно подогретые в термостате. Посевы помещают в термостат при 37°С на 6 часов.

Если изучаемая колония так велика, что в чашке после посева на скошенный агар и бульон еще остался материал, то его используют для постановки пробной агглютинации на стекле со специфическими агглютинирующими сыворотками в разведении 1 : 50. Если при этом разведении получают положительный результат реакции агглютинации на стекле, то ее повторяют с той же сывороткой в разведении 1 : 100. При наличии положительного результата реакции агглютинации с этим вторым разведением сыворотки серологическая характеристика изучаемой культуры заканчивается на второй день исследования.

Примечание. Когда изучаемая колония использована полностью для посева на МПА и МПБ, пробная агглютинация должна быть поставлена с материалом, взятым из других аналогичных колоний.

Через 6 часов после пребывания посевов на МПА и МПБ в термостате из бульонной культуры производят пересев на пестрый ряд или среды Ресселя. Посевы на пестром ряду (или средах Ресселя) помещают в термостат при 37°С до следующего утра, туда же возвращают и бульонную культуру с индикаторными бумажками на индол и сероводород.

3-й день. Учитывают результат роста изучаемой культуры на пестром ряду (или средах Ресселя) и регистрируют биохимическую активность ее в журнале анализов.

С культурой на скошенном агаре повторно ставят реакцию агглютинации на стекле со специфическими агглютинирующими сыворотками и учитывают ее результат.

На основании биохимической и серологической характеристики составляют методически обоснованное заключение о принадлежности обнаруженной культуры к тому или иному виду патогенных микробов кишечной группы и дают окончательный ответ.

Если культура агглютинируется несколькими сыворотками, то ставят развернутую (пробирочную) реакцию агглютинации с теми же сыворотками до их титра. Результаты пробирочной агглютинации

учитывают через 2 часа инкубации при 37°С и на следующий день после пребывания ее при комнатной температуре. Агглютинация с дизентерийными сыворотками выдерживается в термостате при 37°С до следующего дня, после чего учитывается результат реакции. В этом случае анализ удлиняется на один день.

Примечание. При нестерильности фильтрата и получении отрицательного результата анализа на присутствие патогенных микробов кишечной группы исследование воды повторяется.

Описанным выше методом, в соответствии с данными упомянутой инструкции, можно определить присутствие микробов тифозно-паратифозно-дизентерийной группы в питьевой воде при содержании примерно 100—200 особей в 0,5 *л* воды.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ТИФОЗНО-ПАРАТИФОЗНЫХ И ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ ОРИЕНТИРОВОЧНОЙ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОБЫ

Этот метод позволяет сократить срок бактериологического исследования воды на содержание патогенных микробов кишечной группы до 48 часов. Анализ воды проводится в два этапа.

1-й этап. Пробу воды, в объеме не менее чем 0,5 *л*, фильтруют через стерильный мембранный фильтр № 3. После фильтрации фильтр переносят в чашку на поверхность розолового односахарного агара (см. ниже). Осадок с находящимися на фильтре микробами снимают с него шпаделем и им же равномерно распределяют по всей поверхности среды. Этим же шпаделем (не обжигая его) можно засеять дополнительно 2 чашки с той же или другой элективной средой. Такой посев облегчает получение изолированных колоний. Чашки с посевом инкубируют при 37°С в течение 24 часа.

2-й этап. Чашки извлекают из термостата, просматривают и отбирают подозрительные колонии для дальнейшего изучения.

Колонии кишечной палочки на односахарном розоловом агаре — желтые, крупные, выпуклые, круглые, иногда неправильной формы. Среда вокруг колонии приобретает желтый цвет, что указывает на разложение лактозы с образованием кислоты. Колонии паракишечных палочек — круглые, выпуклые, крупные с влажной поверхностью, серые или бесцветные на неизменной или покрасневшей среде.

Патогенные микробы кишечной группы образуют более плоские нежные, желтые, иногда с темным центром и прозрачные красные колонии. Среда вокруг колонии слегка краснеет в результате образования щелочи за счет расщепления пептона.

Подозрительные колонии с розолового односахарного агара отсеивают на розоловый дифференциальный агар с двумя сахарами (РДА). Посев на РДА производят так, как описано выше (см.

двухэтапный бродильный метод). Засеянные пробирки с РДА помещают на 16—24 часа при 37°С. После этого производят учет роста на этой среде по следующим признакам:

а) культуры, развившиеся через 24 часа на РДА и ферментирующие оба углевода (лактозу и глюкозу), изменяют окраску среды в столбике и на скошенной поверхности в желтый цвет. Эти культуры принадлежат к микробам группы кишечной палочки. Они дальнейшему изучению не подлежат;

б) культуры, разлагающие глюкозу (цвет среды в столбике желтый) и не разлагающие лактозу (цвет скошенной поверхности среды не изменяется или краснеет), могут принадлежать к паракишечным палочкам или к патогенным микробам кишечной группы. Эти культуры подвергаются дальнейшему изучению. Из таких культур готовят мазки (окрашивают по Граму). Если в мазках находят грамположительные палочки, то такие культуры исключаются из дальнейшего изучения. Грамотрицательные культуры исследуются в реакции агглютинации (на стекле) со специфическими агглютинирующими сыворотками.

Штаммы, давшие положительную реакцию агглютинации в случае необходимости, могут подвергаться дальнейшей детальной идентификации.

В тех случаях, когда обнаруживаются штаммы, не разлагающие лактозу, но разлагающие глюкозу и агглютинирующиеся специфическими сыворотками, дают ответ на присутствие в воде патогенных бактерий кишечной группы. На этом, через 48 часов от начала исследования, заканчивается сигнальный бактериологический анализ воды.

4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ТИФОЗНО-ПАРАТИФОЗНЫХ И ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ АГГЛЮТИНАЦИИ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ

Методы непосредственного обнаружения патогенных микробов кишечной группы в воде требуют значительного времени и не всегда оказываются достаточно эффективными. Иногда поэтому возникает необходимость использовать и косвенные методы обнаружения тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий в воде. К числу таких методов относится метод агглютинации микробных ассоциаций, разработанный А. Ф. Стояновским и сотрудниками (1955—1957 гг.).

В основу этого метода положено обнаружение в воде агглютинирующихся форм как патогенных бактерий кишечной группы, так и соответствующих им параштаммов других разновидностей микробов, выделяющихся в значительных количествах с испражнениями больных, реконвалесцентов, бактерионосителей и в небольшом числе случаев с фекалиями здоровых людей. Обнаружение агглютинирующихся форм бактерий в воде рассматривается как

показатель свежего эпидемиологически опасного загрязнения воды. Присутствие в ассоциации бактерий патогенных форм повышает титр агглютинации всей микробной смеси. Титр агглютинации оказывается тем выше, чем больше содержится в ассоциации патогенных бактерий. Реакция агглютинации микробных ассоциаций достаточно чувствительна.

Антиген для постановки реакции агглютинации получают следующим образом: пробу воды, в зависимости от задачи исследования, засевают на плотные элективные питательные среды — фуксин-сульфитный агар, односахарный розоловый агар, бактоагар Плоскирева или среду Левина.

В случае исследования интенсивно загрязненной воды — сточной воды, морской воды прибрежной полосы — посев ее производится в количестве 2—3 *мл* на чашку с плотной питательной средой (всего 8—10 чашек) или же вода фильтруется через мембранные фильтры № 3, как описано выше. Объем фильтруемой воды определяется предполагаемой степенью ее загрязнения. Если исследованию подвергается вода с незначительной степенью загрязнения, то через фильтры пропускается не менее 0,5 *л* воды.

Мембранный фильтр после фильтрации накладывают в чашку на поверхность питательной среды и осадок с фильтра равномерно распределяют по всей ее поверхности стеклянным шпаделем. Далее, не обжигая шпаделя, рассевают его последовательно еще в 3—5 чашек с той же или другой питательной средой. Чашки с посевами помещают в термостат на сутки при 37°С. Параллельно делают посевы, которые выращивают 48 часов при температуре 45°С.

Спустя 24—48 часов просматривают посевы и отбирают чашки с хорошо выраженными отдельными колониями. Чашки с наличием сплошного роста для приготовления антигена не используются. Если в чашках, наряду с гладкими (S) формами колоний, выросли отдельные шероховатые (R) формы, то от последних необходимо освободиться (удаляются путем снятия их петлей). После этого в чашку вносят 2—5 *мл* стерильного физиологического раствора и смывают все колонии. Смыв бактерий первоначально взятым объемом физиологического раствора (2—5 *мл*) производится последовательно из всех чашек, на которых обнаружены хорошо выраженные отдельные колонии S-формы. При этом взвесь бактерий переносят из одной чашки в другую при помощи стерильной пипетки. В случае, когда на чашках обнаруживается большое количество шероховатых форм колоний, взвесь из гладких форм готовят путем снятия их петлей в отдельной пробирке с 2—3 *мл* физиологического раствора.

Полученный смыв бактерий подвергается отстаиванию в течение 15—20 минут, после чего верхняя часть взвеси переносится в другую стерильную пробирку и доводится физиологическим раствором до густоты в 2 млрд микробных тел в 1 *мл* (по оптическому стандарту). Правильно приготовленная эмульсия представляет собой равномерную мутную взвесь бактерий и не должна содержать

каких-либо посторонних взвешенных частиц. Затем эта взвесь, содержащая возможно специфические и им подобные антигены, используется для постановки реакции агглютинации.

Реакция агглютинации, в зависимости от цели исследования, может быть поставлена как со смесью агглютинирующих сывороток, так и с отдельными их видами (рекомендуется пользоваться сыворотками, имеющими предельно высокие титры). При этом в пробирках, установленных рядами соответственно числу отдельных видов сывороток, по общепринятой методике готовят в объеме 1 *мл* следующие их разведения: 1 : 10; 1 : 50; 1 : 100; 1 : 200; 1 : 400; 1 : 800 и т. д. Если предварительно готовилась смесь из имеющихся сывороток, то ее сначала центрифугируют в течение 10 минут, а затем используют для приготовления разведений. Вслед за этим в агглютинационные пробирки с соответствующими разведениями сывороток (или смеси сыворотки) вносят по 2 капли антигена — взвеси испытуемых бактерий. Реакция, как обычно, сопровождается контролем сыворотки и контролем антигена (1 *мл* физиологического раствора с 2 каплями взвеси бактерий).

Содержимое всех пробирок тщательно перемешивается путем встряхивания штатива, после чего их помещают на 2 часа в термостат при 37°С. Затем штатив с пробирками вынимают из термостата и оставляют до следующего дня при комнатной температуре.

Учет реакции производится при помощи лупы или агглютиноскопа. Просмотр пробирок начинают с контроля сыворотки и контроля антигена. Бывают случаи обнаружения спонтанной агглютинации в пробирке с контролем антигена. Это является показателем давнего фекального загрязнения воды. Если спонтанная агглютинация не обнаружена, то просмотр пробирок продолжают начиная с наименьшего разведения сыворотки и заканчивают наибольшим. Результаты реакции отмечаются в журнале анализов полюсами или минусами. Реакция агглютинации получается положительной при наличии в ассоциации бактерий представителей патогенной кишечной флоры или соответствующих им параштаммов. При этом титр агглютинации параштаммов обычно бывает сравнительно невысоким. В то же время патогенные бактерии кишечной группы, попавшие в водоем и еще не потерявшие свою агглютинабильность, дают реакцию в высоком титре.

По результатам реакции, через 36—48 часов от начала анализа можно дать предварительный положительный или отрицательный ответ на наличие в исследуемой воде тифозно-паратифозных или дизентерийных бактерий.

Метод агглютинации микробных ассоциаций, полученных путем смыва с плотной питательной среды всей массы выросших бактерий, рационален вследствие своей экспрессности как ориентировочный, имеющий сигнальное значение. Он позволяет обнаружить пробы воды, в которых содержатся патогенные бактерии, что облегчает дальнейшее углубленное бактериологическое изучение обследуемого водоисточника.

5. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ТИФОЗНО-ПАРАТИФОЗНЫХ И ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ ПОМОЩИ РЕАКЦИИ С ГАПТЕНОМ

Для быстрого выявления в воде патогенных микробов кишечной группы можно использовать реакцию с гаптеном, разработанную Московским институтом эпидемиологии и микробиологии (Равич-Биргер).

Гаптены высоко специфичны для каждого вида бактерий, что позволяет их открывать в экстрактах из смеси разных микробов, если имеется достаточно чувствительная сыворотка. Этот метод применялся при исследовании воды разнообразных водоисточников и дал удовлетворительные результаты, особенно при неблагоприятной эпидемиологической ситуации. Методика исследования заключается в следующем.

1. Исследуемый образец воды (не менее 0,5 *л*) фильтруют через мембранный фильтр № 3. При замедленной фильтрации воду отфильтровывают небольшими объемами (от 20 до 100 *мл*) через отдельные фильтры. Каждый фильтр помещают в чашку Петри на поверхность розолового односахарного агара. Если фильтрование производится через несколько фильтров, то в каждую чашку кладут не более 2 фильтров.

2. Осадок с фильтра тщательно растирают на поверхности питательной среды стеклянным шпаделем.

После окончания рассевов с фильтров на поверхности питательной среды тем же шпаделем без обжигания делают посев на дополнительную чашку с той же средой для получения изолированных колоний.

3. Посевы выращивают при температуре 37°С в течение 18—24 часов. Затем колонии как с поверхности среды, так и с фильтра смывают 4—5 *мл* 1% уксусной кислоты при помощи стеклянного шпаделя.

4. Смыв микробов сливают через воронку в чисто вымытую пробирку и кипятят на водяной бане до просветления жидкости и выпадения осадка (1—1½ часа, но не более). Выпадение осадка и просветление жидкости показывает, что белки свернулись полностью и полисахаридные компоненты микробов перешли в жидкость. После этого жидкость над осадком осторожно сливают в воронку и фильтруют через асбестовую вату, плотно уложенную в устье носика воронки. Жидкость фильтруют до прозрачности и полного обесцвечивания. При необходимости фильтрование повторяют.

5. На каждые 2—3 *мл* полученного прозрачного фильтрата добавляют 2 капли индикатора бромтимолблау (0,1 *г* порошка индикатора растирают в агатовой ступке с 3,2 *мл* 1/20 раствора едкого натра и доводят до 25 *мл* дистиллированной водой. Для приготовления рабочего раствора полученный основной раствор разводится в 10 раз водой). Жидкость окрашивается в ярко-желтый цвет. Затем добавлением по каплям 20% раствора углекислой соды (Na_2CO_3)

доводят ее до нейтральной реакции (pH 7,0—7,2), т. е. до появления голубовато-зеленоватого цвета. Если при подщелачивании появляется муть, то фильтрование повторяют.

6. Полученный таким образом прозрачный нейтральный фильтрат может содержать гаптены патогенных микробов; с целью выявления их ставят реакцию кольцепреципитации. Для этого в узкие преципитационные пробирки пастеровской пипеткой наливают небольшое количество (0,5 *мл*) цельной или разведенной пополам преципитирующей сыворотки, соответствующей виду определенного микроба. Затем пастеровской пипеткой, отдельно для каждого гаптена, осторожно наслаивают обработанный фильтрат на преципитирующую сыворотку так, чтобы жидкости не смешивались. Граница двух жидкостей должна быть ясно очерчена.

7. Реакция сопровождается двумя контролями. Для контроля сыворотки в одну из пробирок с преципитирующей сывороткой наслаивают физиологический раствор. Для контроля гаптена параллельно преципитирующей сыворотке полученный прозрачный фильтрат (гаптен) наслаивается на нормальную сыворотку.

8. Преципитационные пробирки (опытные и контрольные) помещают в термостат на 30 минут при 37°С. Затем пробирки вынимают из термостата и учитывают результат реакции. В положительных случаях на границе двух жидкостей в опытной пробирке появляется беловатое колечко при отсутствии такового в обеих контрольных пробирках (с физиологическим раствором и нормальной сывороткой).

Окончательный результат реакции учитывают повторно после 30-минутного стояния контрольных и опытных пробирок при комнатной температуре. Если за этот срок кольцо не образовалось, результат считают отрицательным. При наличии колечка дается ответ, что обнаружены патогенные микробы в реакции с гаптеном (соответственно виду преципитирующей сыворотки).

Примечание. 1. Особое внимание следует уделять преципитирующей сыворотке. Чем выше ее преципитирующий титр, тем чувствительнее реакция. Однако не все сыворотки, которые преципитируют с полным антигеном, реагируют с гаптеном; поэтому каждую серию сыворотки нужно протитровать с заведомым гаптеном, полученным из патогенной гомологичной культуры.

2. Сыворотка должна обладать преципитирующим титром от 1 : 3 000 000 и более по полному антигену и 1 : 4 и более по гаптену из культуры.

3. При постановке реакции необходимо пользоваться обезжиренными, тщательно промытыми и сухими преципитационными пробирками.

6. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ПАТОГЕННЫХ МИКРОБОВ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ ПРИ ПОМОЩИ РЕАКЦИИ НАРАСТАНИЯ ТИТРА ФАГА

(применительно к временным методическим указаниям, утвержденным Министерством здравоохранения СССР 1 марта 1960 г.).

Реакция нарастания титра фага (РНФ) разработана в ИЭМ им. Гамалея АМН СССР (В. Д. Тимаков и Д. М. Гольдфарб). Эта

реакция является высокочувствительным и специфичным методом исследования, позволяющим за короткий срок (11—22 часа) обнаружить брюшнотифозные и дизентерийные бактерии в воде без выделения чистых культур в присутствии посторонней микрофлоры.

РНФ основана на свойстве строго специфического, так называемого «индикаторного» фага размножаться только при контакте с гомологичными микробными клетками. Эта реакция наступает при определенных количественных соотношениях между фагом и бактериальными клетками. Оптимальными условиями для реакции является соотношение 1 : 200 (одна корпускула фага на 200 бактериальных клеток). В этом случае количество корпускул фага в испытуемой пробе по сравнению с контролем увеличивается. По факту нарастания титра фага и судят о наличии в исследуемой воде гомологичных бактерий.

Применение РНФ для индикации брюшнотифозных бактерий

Для индикации брюшнотифозных микробов в воде методом РНФ используют брюшнотифозный индикаторный фаг, позволяющий выявлять микробные клетки, содержащие Ви-антиген. В качестве талонной культуры при этом используется штамм ty — 2 № 4446, эодержащий Ви-антиген.

Методика исследования. Исследуемую пробу воды разливают в 2 стерильные колбы (№ 1 и 2) по 80 *мл* в каждую. Затем в колбу № 1 добавляют 10 *мл* концентрированной среды следующего состава (100 *мл* мясной воды, 20 *г* пептона и 5 *г* хлористого натрия; pH 7,2—7,4) и 10 *мл* индикаторного фага в рабочем разведении (10^4).

В колбу № 2 добавляют 10 *мл* концентрированной среды указанного выше состава и 10 *мл* обычного мясо-пептонного бульона.

Одновременно с этим в колбу № 3 вносят 90 *мл* обычного мясо-пептонного бульона и 10 *мл* индикаторного фага в рабочем разведении.

Фаг в рабочем разведении должен содержать десятки тысяч корпускул в 1 *мл*; поэтому при титре фага равном, например, $3—5 \times 10^8$ в 1 *мл* разводят его последовательно в 10 000 раз, а при титре фага равном $2—3 \times 10^9$ в 1 *мл* — в 100 000 раз.

Рабочее разведение фага готовится следующим образом: тщательно соблюдая правила стерильности, вскрывают ампулу цельного фага (титр — 5×10^8) и переносят 1 *мл* его во флакон, содержащий 100 *мл* МПБ, и тщательно перемешивают. После разведения в 100 раз титр фага снизится до 5×10^6. Так как для постановки РНФ используется рабочее разведение 5×10^4, полученный фаг необходимо развести еще в сто раз. Для этого в пробирку, содержащую мясопептонный бульон в количестве 9,9 *мл*, вносят 0,1 *мл* индикаторного фага из предыдущего разведения. Это второе разведение и используется в опыте как рабочее. В порядке постановки опыта титр индикаторного фага снижается до десятков корпускул в 1 *мл*, что дает возможность учесть результат исследования.

Колба № 1, в которой находится исследуемая вода, концентрированная среда и индикаторный фаг, является опытной. Колба № 2

без индикаторного фага служит контролем для выявления присутствия в исследуемой воде свободного фага. Колба № 3— контроль титра индикаторного фага.

Все три колбы помещают в термостат при 37°С на $4^1/_2$ —5 часов. Для увеличения чувствительности реакции время инкубации опытной колбы увеличивается до 16—18 часов.

После инкубации в термостате из содержимого каждой колбы дополнительно делают разведения обычным мясо-пептонным бульоном. Разбавление должно быть таким, чтобы при высеве 1 *мл* из колбы № 3 (контроль титра фага) на чашках появлялось несколько десятков негативных колоний фага (стерильные пятна). В этой колбе, как отмечено выше, индикаторный фаг с учетом предварительного его разведения содержит в 1 *мл* несколько тысяч корпускул. Чтобы получить в конечном разведении несколько десятков корпускул фага в 1 *мл*, необходимо содержимое этой колбы развести еще в 100 раз (т. е. внести микропипеткой 0,1 *мл* содержимого в 9,9 *мл* бульона). Аналогичные разведения делают с содержимым остальных 2 колб (№ 1 и 2), причем последнее разведение должно соответствовать титру фага.

Для дальнейшего исследования используется последнее разведение каждой смеси, приготовленное в пробирках (№ 1, 2 и 3, соответственно номеру колбы).

Микрофлора, содержащаяся в смесях, должна быть инактирована. С этой целью содержимое каждой пробирки прогревается в водяной бане при 56—58° в течение 30 минут. После инактивации содержимое этих пробирок используется для определения числа корпускул фага методом агаровых слоев.

Метод агаровых слоев. При исследовании методом агаровых слоев необходимо заранее заготовить 1,5 и 0,7% мясо-пептонный агар. Для подавления воздушной микрофлоры перед разливкой к 1,5% МПА добавляют 0,04% спиртовый раствор генцианвиолета (0,1 *мл* на 100 *мл* среды) и разливают ее в чашки по 25—30 *мл*.

Чашки подсушивают в термостате 2—3 часа (агар можно разливать накануне дня исследования).

0,7% мясо-пептонный агар используется для второго слоя. Этот агар разливают в пробирки по 2—2,5 *мл*. В день исследования пробирки с 0,7% агаром помещают в водяную баню при 46—48°С для расплавления.

Эталонная культура отсевается на 2% скошенный мясо-пептонный агар накануне дня исследования. В день исследования из нее готовят эмульсию (смыв культуры производится 5 *мл* физиологического раствора хлористого натрия).

Затем в каждую пробирку с 0,7% расплавленным агаром добавляют по 0,1 *мл* (2 капли) смыва эталонной культуры и по 1 *мл* разведенной и инактивированной смеси (см. выше). Содержимое каждой пробирки быстро и тщательно перемешивают и тотчас же выливают вторым слоем в чашку с 1,5% агаром. Желательно опытную пробу (пробирка № 1) и контроль титра фага (пробирка № 3)

засевать на 2 параллельные чашки с 1,5% агаром. Пробу на свободный фаг можно засевать на 1 чашку.

Через 20—30 минут после засева все чашки помещают в термостат при 37°С (дном вверх) на $4^1/_2$—5 часов, после чего производят учет результатов анализа.

Учет результатов. Результат реакции учитывается путем подсчета корпускул фага в опытных и контрольных чашках. В случае наличия параллельных чашек на одну опытную пробу вычисляется среднее арифметическое число негативных пятен. Результат реакции оценивается по следующей схеме:

Увеличение количества корпускул индикаторного фага в опытной пробе (пробирка № 1) по отношению к количеству в контроле титра фага (пробирка № 3)	Регистрация результатов	Оценка РНФ
Увеличение до 2,5 раз	—	отрицательная
» от 2,6 до 5 раз	+	слабоположительная
» от 5,1 до 7 раз	++	положительная
» от 7,1 до 10 раз	+++	положительная
» более чем в 10 раз	++++	резко положительная

В случае наличия в исследуемой пробе воды свободного фага (пробирка № 2) число корпускул фага на чашке подсчитывается и вычитается из числа корпускул индикаторного фага опытной пробы (пробирка № 1). Разница сравнивается с контролем титра фага (пробирка № 3) и устанавливается кратность увеличения корпускул фага в опытной пробе.

Если в исследуемой воде содержится свободный фаг в высоком титре, то может появиться сплошной лизис эталонной культуры (пробирка № 2). В этом случае реакция не учитывается.

Применение РНФ для индикации дизентерийних бактерий

В качестве индикаторных фагов могут быть использованы:

а) фаг Флекснера, полученный из исходного фага, выпущенного Тбилисским институтом вакцин и сывороток, путем пассирования на дизентерийной культуре бактерий Флекснера, штамм № 170(с). Этот штамм должен находиться в S-форме и пассироваться в мясо-пептонном бульоне. Фаг Флекснера выявляет бактерии Флекснера и, частично, бактерии Зонне. В качестве эталонной культуры в данном случае используется культура бактерий Флекснера, штамм № 170 (с);

б) фаг Ньюкестль (получен Ершовым). Эталонной культурой для выявления на чашках корпускул фага Ньюкестль является культура бактерий Ньюкестль, штамм «Сергеев»;

в) фаг Зонне, полученный при лизисе какой-либо культуры Зонне. В качестве эталонной культуры для выявления на чашках корпускул фага Зонне может быть использована любая лизабельная культура Зонне.

Методика исследования. Исследование воды проводится так же, как и при индикации брюшнотифозных бактерий (см. выше).

Реакция нарастания титра фага может рассматриваться в качестве одного из дополнительных методов индикации в воде брюшнотифозных и дизентерийных бактерий. Поэтому она не заменяет проведения исследований по общепринятым методам.

7. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ПАТОГЕННЫХ МИКРОБОВ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ МЕТОДОМ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

В настоящее время особое внимание уделяется различным быстрым (экспрессным) методам обнаружения патогенных микробов в воде. Из них важное значение приобретает метод люминесцентной

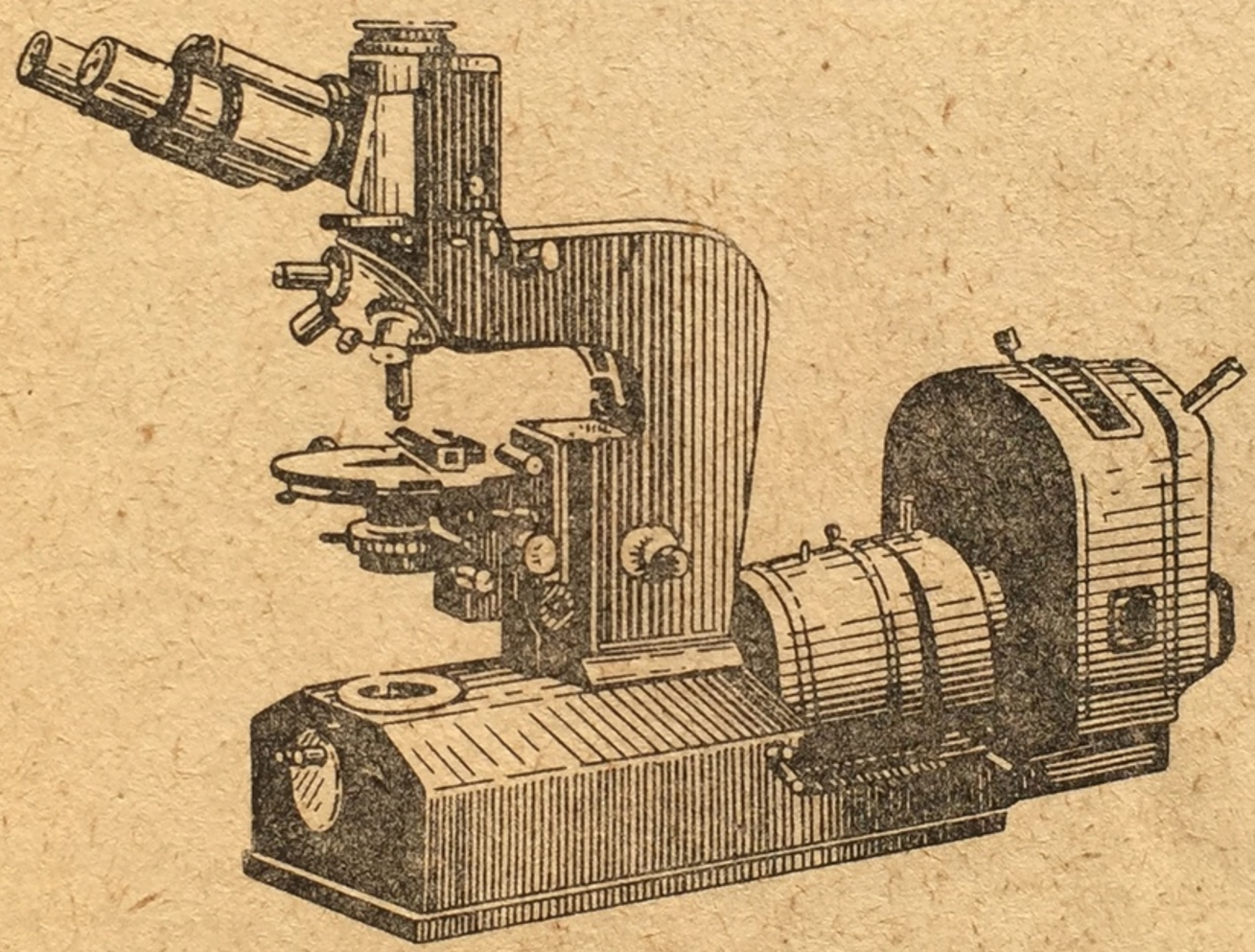


Рис. 24. Люминесцентный микроскоп МЛ-2.

микроскопии, особенно в сочетании с использованием специфических люминесцирующих сывороток.

Для люминесцентной микроскопии используется два прибора: люминесцентный микроскоп (МЛ-2) или люминесцентное устройство (ОИ-17) (рис. 24, 25).

Люминесцентное устройство ОИ-17 состоит из опак-иллюминатора со светоделительной пластинкой, люминесцентного осветителя ОИ-18 с ртутно-кварцевой лампой СВД-120 А, дросселя и набора светофильтров. Совместно с биологическим микроскопом МБИ-1 (или МБИ-4) люминесцентное устройство позволяет производить наблюдение объектов при освещении их сверху через опак-иллюминатор и объектив. Этот способ освещения объектов сверху является оптимальным при работе с иммерсионным объективом.

Люминесцентная микроскопия в сочетании с методикой флуорохромирования с успехом используется для дифференциации микроколоний на мембранных фильтрах. При этом исследуемая вода фильтруется через мембранные фильтры № 3, которые помещаются на плотные питательные среды, применяемые для выращивания патогенных или санитарно-показательных микроорганизмов. После выращивания в термостате в течение 6—8 часов фильтры снимаются с поверхности среды и окрашиваются в течение 5 минут раствором акридина оранжевого 1 : 5 000. С этой целью на крышку чашки Петри наносят 3—5 капель раствора флуоресцентного красителя и на них помещают фильтр нижней его поверхностью. После

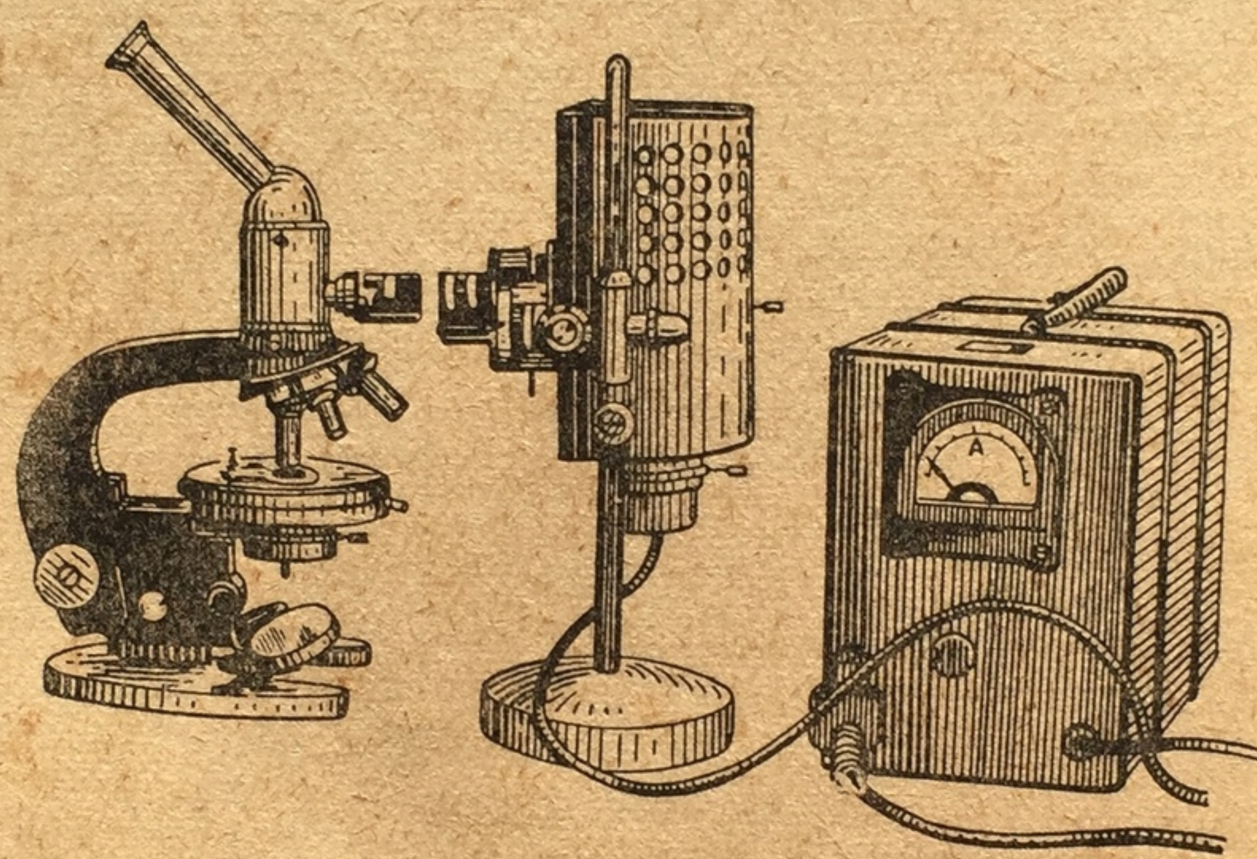


Рис. 25. Люминесцентное устройство О-17.

окраски фильтр переносят в другую чашку и высушивают в термостате. Затем фильтр исследуют под малым увеличением стереоскопического микроскопа МБС-1 или МБС-2. Для подавления аутофлуоресценции мембранных фильтров последние перед исследованием необходимо обрабатывать черным красителем, применяемым для окраски шерстяной ткани. Аутолюминесценция фильтров подавляется также на средах, содержащих фуксин или парафуксин, в частности на среде Эндо.

Методика исследования микроколоний на мембранных фильтрах с помощью люминесцентной микроскопии разработана для ускоренной дифференциации кишечной палочки и холерного вибриона. Однако эта методика не позволяет осуществлять специфическую окраску и дифференциацию патогенных от непатогенных микробов, имеющих одинаковые морфологические и физиологические свойства. Такая дифференциация осуществляется только с помощью метода флуоресцирующих антител.

Флуоресцирующие антитела представляют собой гамма-глобулиновые фракции иммунных агглютинирующих сывороток, химически соединенные с флуорохромами. Вследствие этого они обла-

дают способностью светиться (флуоресцировать) в ультрафиолетовых и видимых (фиолетовых и синих) лучах. Для метки иммунных сывороток применяется изоцианат флуоресцеина, обладающий яркой флуоресценцией желто-зеленого цвета. Меченые сыворотки не утрачивают своей иммунологической специфичности и способны давать с гомологичными антигенами феномены реакции агглютинации или преципитации. Следовательно, флуоресцирующие антитела являются своеобразными иммунохимическими индикаторами, обладающими специфическим родством к гомологичному антигену. Метод флуоресцирующих антител поэтому позволяет производить специфическую идентификацию отдельных микробных клеток.

В практике используется два принципа обработки препаратов флуоресцирующими антителами — прямой и непрямой методы.

При прямом методе на препарат наносят каплю флуоресцирующей иммунной сыворотки, после чего его промывают отмывающими растворами и рассматривают с помощью люминесцентного устройства. Для приготовления препарата требуется 15—20 минут. Этот метод характеризуется высокой чувствительностью. Он имеет несомненные преимущества перед обычными бактериологическими методами, позволяя обнаружить единичные микробные клетки, как живые так и мертвые, в течение минимального срока. Чтобы пользоваться прямым методом, необходимо иметь флуоресцирующие иммунные сыворотки против всех возможных видов патогенных микробов.

Непрямой метод требует наличия только одной флуоресцирующей антигамма-глобулиновой сыворотки (обычно кроличьей). В данном случае на препарат, содержащий антиген (микробные клетки, вирусы), наносят агглютинирующую, но не флуоресцирующую иммунную сыворотку. После промывания препарата, с целью удаления избытка немеченной сыворотки, гамма-глобулин, осажденный на антигене, обнаруживается при помощи флуоресцирующей антигамма-глобулиновой кроличьей сыворотки. Для этого на препарат, обработанный обычной агглютинирующей сывороткой и отмытый от ее избытка, наносится флуоресцирующая антигамма-глобулиновая сыворотка. После этого препарат второй раз промывают буферными растворами и исследуют с помощью люминесцентного устройства. Этот метод позволяет выявлять не только патогенные бактерии, но и вирусы.

В случае исследования воды пробу подвергают центрифугированию при 3000—3500 оборотах в течение 15 минут. Из осадка после удаления жидкости над ним готовят мазок, который осторожно фиксируют нагреванием над пламенем в течение 5—10 секунд, не перегревая его. Затем обрабатывают мазок прямым или непрямым методом, как описано выше. Обработка препаратов производится при температуре 37°С (в термостате) во влажной камере. На препарат наносят каплю сыворотки в разведении 1 : 2 и выше. Время обработки обычно равняется 5—10 минутам. После этой экспозиции препарат отмывают от избытка сыворотки. Для отмывания препарат

помещают на 10 минут в 0,15 *М.* раствор фосфатного буфера (pH 7,2—7,4) при комнатной температуре.

С целью концентрации патогенных микроорганизмов исследуемую воду можно фильтровать через мембранные фильтры. Для приготовления препаратов в этом случае делаются мазки-отпечатки с верхней поверхности фильтра. На обезжиренное предметное стекло помещают фильтр его верхней поверхностью и ребром пинцета тщательно прижимают к стеклу. После высыхания фильтр отделяется от стекла. Мазок-отпечаток фиксируют и обрабатывают одним из описанных выше методов.

В положительных случаях в поле зрения люминесцентного микроскопа или люминесцентного устройства выявляется хорошо сверкающая флуоресценция микробных клеток, вид которых определяется по виду специфической агглютинирующей сыворотки. При этом микробная клетка как бы окружается футляром, состоящим из конгломератов флуоресцирующих молекул иммунного белка.

8. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

Обнаружение холерного вибриона в воде осуществляется в основном методом обогащения с обязательным выделением чистых культур возбудителя и их идентификацией.

Доставленную пробу воды в объеме не менее 900 *мл* (доведенной до pH = 7,6—7,8 насыщенным раствором соды) засевают в колбу Эрленмейера с 100 *мл* основного раствора пептона[1]. Тот же объем исследуемой воды можно разделить на две части (по 450 *мл*) и засеять в колбы с 50 *мл* основного раствора пептона. Наиболее целесообразно указанное количество воды дробить на небольшие объемы и засевать по 90 *мл* ее в широкогорлые флаконы, содержащие по 10 *мл* основного раствора пептона. На этой среде вибрионы быстро размножаются и уже через несколько часов скопляются почти в чистой культуре на поверхности жидкости, образуя нежную пленку.

Флаконы с засеянной водой помещают в термостат при 37°С на 8—24 часа для выращивания посева.

После 5—6-часовой инкубации с поверхности засеянной среды (из каждого флакона) отбирают несколько петель жидкости вместе с пленкой и засевают ее на поверхность щелочного мясо-пептонного агара (pH = 8,5) в чашке Петри. На каждый флакон необходимо брать не менее двух чашек с агаром. Посевы на чашках выдерживают в термостате при 37°С в течение 8—10 часов.

Для более быстрого предварительного ответа при исследовании питьевой воды можно использовать метод выращивания посева в присутствии специфической агглютинирующей сыворотки. Это осуществляется следующим образом. Одновременно с посевом на чашки с щелочным агаром ставят реакцию агглютинации с той же засеянной пептонной средой. При этом в штатив устанавливают ряды стерильных пробирок по числу засеянных флаконов. В каждом ряду должно содержаться по 7 агглютинационных пробирок. Во все пробирки соответствующего ряда стерильно наливают по 1 *мл* засеянной пептонной среды, взятой с поверхности данного флакона. Затем в отдельной пробирке разводят агглютинирующую холерную сыворотку в отношении 1 : 50. Для разведения сыворотки вместо физиологического раствора берется засеянная пептонная среда соответствующего флакона. После этого 1 *мл* разведенной сыворотки вносят в первую пробирку данного ряда, содержащую 1 *мл* засеянной среды (получают разведение

[1] Основной раствор пептона, применяемый для посева воды, содержит 10% пептона, 5% хлористого натрия и 0,1% азотно-кислого калия; pH = 7,6 — 7,8.

1 : 100), перемешивают и 1 *мл* содержимого переносят во вторую пробирку того же ряда и т. д. до предпоследней пробирки включительно. Таким образом получают серийные разведения сыворотки от 1 : 100 до 1 : 3200 в каждом ряду пробирок. В последние, седьмые, пробирки каждого ряда сыворотку не прибавляют — они служат контролем.

Агглютинацию с засеянной пептонной средой помещают в термостат при 37°С на 8—10 часов, после чего учитывают результат реакции. Наличие агглютинации в титре не ниже 1 : 800 позволяет дать предварительный положительный ответ на наличие холерного вибриона в исследуемой воде.

Наряду с пересевом на чашки и постановкой реакции агглютинации из поверхностного слоя засеянной пептонной среды готовят мазок (окрашивают водным фуксином) и висячую каплю, которые исследуют микроскопически.

После пересева на чашки с щелочным агаром и постановки реакции агглютинации флаконы с засеянной средой не уничтожают, а вновь помещают в термостат до истечения 24-часовой инкубации (могут понадобиться для дальнейшего исследования).

Через 8—10 часов роста посева на щелочном агаре (см. выше) производят изучение подозрительных колоний. Внимание обращают на небольшие круглые прозрачные с ровными краями колонии, слегка опалесцирующие в проходящем свете голубоватым цветом. Из таких колоний готовят мазки (окрашивают фуксином) и проверяют их серологические свойства — пробная агглютинация на стекле. Изученные колонии отвивают на косой агар. Посевы на косом агаре помещают в термостат при 37° С на 8—10 часов. Затем проверяют чистоту выделенной культуры и подвергают окончательной идентификации.

Для окончательной идентификации выделенную культуру с косого агара пересевают в 1% пептонную воду (нитрозо-индоловая проба), на желатину (определение протеолитической способности), на среды пестрого ряда (определение ферментативной активности) и на среду с кровью (определение гемолитической способности). Наряду с этим с той же культурой ставят пробу с холерным бактериофагом и развернутую реакцию агглютинации.

Нитрозо-индоловую пробу ставят с 18—24-часовой культурой на 1% пептонной воде, добавляя к ней несколько капель крепкой серной кислоты и небольшое количество 0,01% раствора азотисто-кислого натрия. При наличии индола появляется кольцо розового цвета. Истинные холерные вибрионы образуют индол.

Ферментативная активность выделенной культуры определяется в ряду пробирок с жидкими углеводными средами (лактоза, глюкоза, мальтоза, маннит, сахароза, галактоза, манноза, арабиноза, крахмал) и индикатором Андредэ или бромтимолблау. Холерный вибрион через двое суток сбраживает с образованием кислоты без газа глюкозу, левулезу, галактозу, мальтозу, сахарозу, крахмал и непостоянно маннит; не сбраживает арабинозу. В среде с лактозой через 48 часов наступает обесцвечивание (редукция).

Для испытания гемолитической способности исследуемую культуру засевают на 1% пептонную воду и после суточной инкубации к последней стерильно добавляют 2% отмытых эритроцитов барана. После этого ее дополнительно выдерживают 48 часов при 37°С. Типичные культуры холерного вибриона не дают гемолиза.

Проба с бактериофагом ставится следующим образом. В 2 пробирки с 8—10 *мл* мясо-пептонного бульона вносят по 0,2 *мл* 18-часовой бульонной культуры исследуемого штамма. Затем в одну из пробирок добавляют 0,2 *мл* специфического холерного бактериофага, а другую оставляют в качестве контроля. Обе пробирки помещают в термостат на 5 часов при 37°С и по истечении 2 часов каждые 30 минут за ними наблюдают. Через 2—5 часов роста в контрольной пробирке появляется муть. В положительном случае за это время в пробирке с фагом наступает полное просветление среды, т. е. лизис культуры. В отрицательном случае в обеих пробирках появляется муть и нежная пленка на поверхности среды.

Следует отметить, что все перечисленные выше признаки не являются свойственными только холерному вибриону. Поэтому каждый из этих признаков в отдельности не имеет абсолютного значения для отличия холерных вибрионов от холероподобных. Необходимо учитывать весь этот комплекс признаков как ценное дополнение к данным серологического исследования.

При окончательной идентификации выделенной культуры решающее значение имеют результаты развернутой реакции агглютинации со специфической агглютинирующей холерной сывороткой, которая ставится по общеизвестной методике.

С целью быстрых предварительных ответов при исследовании питьевой воды на наличие холерного вибриона можно рекомендовать также метод люминесцентной микроскопии (см. выше).

САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ГАЗИРОВАННЫХ ВОД ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Естественные минеральные воды, изливающиеся из глубинных слоев самопроизвольно или получаемые с помощью насосов, при отсутствии надежного каптажа смешиваются с водами поверхностного залегания и при этом подвергаются значительному бактериальному загрязнению. Так, по данным И. С. Савощенко (1954)[1], многолетние систематические исследования минеральных вод Ессентукского курорта показали, что вода из восьми глубинных источников, отобранная в количестве 8290 проб, только в 75 случаях (0,9%) дала снижение титра кишечной палочки ниже 300. В то же время из 838 проб, отобранных из источников, питающихся грунтовым потоком, обнаружено снижение титра кишечной палочки в пределах 300 и менее в 303 случаях, т. е. в 37%. Поэтому лечебные минеральные воды, в особенности питьевого назначения, нуждаются в систематическом контроле не менее, чем вода водопроводов.

Санитарно-бактериологический анализ минеральных вод естественного происхождения включает определение общего количества бактерий в 1 *мл* и количества бактерий группы кишечной палочки.

Для бактериологического исследования естественных минеральных вод отбираются пробы как по ходу технологического процесса разлива их, так и из готовой продукции. Если предстоит отбор проб минеральных вод, содержащих значительное количество железа, непосредственно из источника, то в стерильную бутылку предварительно вносят 2 *мл* 5% стерильного раствора лимоннокислого натра (на 0,5 *л* воды). Это препятствует выпадению гидрата окиси железа. Свежеразлитые минеральные газированные воды отбираются в бутылках, укупоренных кронен-пробкой.

Отобранные для анализа пробы должны сохраняться при низкой температуре (в условиях ледника) и доставляться в лабораторию не позднее 1 часа с момента отбора. Исследование воды необходимо производить не позднее 2 часов после отбора пробы, так как выпадающие из раствора соли могут адсорбировать на себе содержащиеся в воде бактерии.

Перед исследованием минеральных газированных вод, доставленных в оригинальной упаковке, производят их дегазацию. Для

---

[1] Гигиена и санитария, 1954, № 6, стр. 21.

этого кронен-пробку и венчик бутылки обтирают спиртом, обжигают ее факелом и тотчас же вскрывают бутылку обожженным ключом. Освобожденную от оригинальной пробки бутылку закрывают стерильной (запасной) ватно-марлевой пробкой и встряхивают в течение 30 минут или выдерживают в термостате при 43°С в течение 1 часа.

Общее количество микробов определяется по методике, изложенной при анализе питьевой воды (по ГОСТу 5216-50).

Пробу воды тщательно перемешивают стерильной пипеткой и 2 объема ее (0,1 и 1 *мл*) вносят в стерильные чашки, которые заливают расплавленным и охлажденным 1,5% мясо-пептонным агаром. Посевы инкубируют 24 часа при 37°С. Затем подсчитывают выросшие колонии и находят количество бактерий в 1 *мл* воды.

Определение количества бактерий группы кишечной палочки в этих водах производится методом мембранных фильтров, в соответствии с требованиями ГОСТа 5216-50, со следующими дополнениями: после фильтрации исследуемого объема воды мембранный фильтр дважды промывают небольшим количеством (5 *мл*) стерильной водопроводной воды для удаления из фильтра остатка минеральных солей и затем уже укладывают его на фуксин-сульфитный агар.

При исследовании минеральной воды для фильтрации берется 300 *мл* (фильтруется через один или несколько фильтров в зависимости от количества микрофлоры). Воду со значительной минерализацией (от 8 *г/л* и выше) и некоторые радиоактивные воды необходимо фильтровать дробно, т. е. через несколько фильтров.

В этих случаях через отдельные фильтры пропускают не более 50 *мл* воды для того, чтобы устранить помехи, связанные с отложением на фильтре большого количества осадка. Фильтры, как обычно, помещают на фуксин-сульфитный агар и инкубируют при 37°С в течение 16—24 часов, после чего производят подсчет колоний, типичных для микробов группы кишечной палочки.

При идентификации бактерий группы кишечной палочки учитывают, помимо колоний с металлическим блеском, также красные, серовато-красные, слизистые и розовые с темным центром. Подозрительные колонии микроскопируют и отсевают в пробирки с разведенной глюкозо-пептонной средой для постановки вторичной бродильной пробы.

В итоге учитывают все разновидности микробов группы кишечной палочки, указывающие на фекальное загрязнение воды.

Примечание. 1. Кишечные палочки из радиоактивных вод на фильтрах при выращивании на фуксин-сульфитном агаре, как правило, образуют выпуклые, слизистые с серовато-красной окраской колонии.

2. Вторичная бродильная проба при анализе минеральных вод инкубируется в течение 24 часов при 37°С.

В исключительных случаях при отсутствии в лаборатории мембранных фильтров или фильтровальных аппаратов допускается

определение коли-титра методом бродильной пробы. Для исследования минеральной воды бродильным методом используют 2 объема по 100 *мл* и 10 объемов по 10 *мл*. Указанные объемы воды засевают в концентрированную глюкозо-пептонную среду Эйкмана. Посевы выращивают при 43°С в течение 18—24 часов. Затем производят пересев на чашку со средой Эндо и выросшие колонии при 37°С после микроскопии идентифицируют по вторичной бродильной пробе. Расчет коли-титра в этом случае производится по стандартной таблице (см. выше).

При систематическом санитарно-бактериологическом контроле разлива минеральных вод необходимо пользоваться следующей примерной схемой.

Точки отбора проб	Периодичность отбора проб	Производимые определения	Периодичность определения
Производственная водопроводная вода	один раз в сутки	общее к-о бактерий коли-титр	один раз в неделю один раз в сутки
Источник минеральной воды	не реже одного раза в неделю	общее к-во бактерий коли-титр	один раз в месяц в каждой пробе
Минеральная вода из заводских резервуаров до обработки	один раз в сутки	общее к-во бактерий коли-титр	один раз в неделю один раз в сутки
Минеральная вода после фильтрации	один раз в смену	общее к-во микробов коли-титр	один раз в неделю один раз в смену
Минеральная вода после бактерицидных установок	один раз в смену	коли-титр	один раз в смену
Минеральная вода из резервуара после обработки	один раз в смену	коли-титр	один раз в смену
Минеральная вода из наливателя разливной машины	один раз в смену	коли-титр	один раз в смену
Готовая продукция	три раза в смену по 2 бутылки от каждого агрегата	общее к-во бактерий коли-титр	один раз в смену из 1 бутылки в каждой бутылке
Вымытые бутылки, поступающие на разлив минеральной воды	один раз в смену по 10 бутылок от каждой моечной машины	общее к-во микробов наличие кишечной палочки	один раз в смену один раз в смену

Продолжение

Точки отбора проб	Периодичность отбора проб	Производимые определения	Периодичность определения
Кронен-пробка	один раз в сутки	наличие кишечной палочки	один раз в сутки
Цистерны	один раз в неделю	общее к-во бактерий коли-титр	один раз в неделю один раз в неделю
Руки рабочих (купорщицы, наливальщицы, браковщицы пятачка, машиниста сбормашины, браковщицы кронен-пробки)	один раз в сутки	на наличие кишечной палочки	один раз в сутки

Приведенная схема является примерной и может быть конкретизирована применительно к производственным условиям каждого отдельного предприятия.

Выпуск разлитой в бутылки минеральной воды для реализации производится на основании благоприятных данных санитарно-бактериологического анализа.

В соответствии с «Санитарными требованиями по разливу минеральных вод», утвержденными Главной государственной санитарной инспекцией СССР 18 марта 1959 года за № 284—59, разлитая в бутылки минеральная вода не должна содержать более 100 микроорганизмов в 1 *мл*. Коли-титр такой воды должен быть более 300.

При неблагоприятных результатах бактериологического анализа, хотя бы в одной из отобранных проб, разлитая за смену минеральная вода задерживается на складе для повторного анализа.

При коли-титре 150 или 300, хотя бы в одной из исследованных проб, минеральная вода выдерживается 5 дней на складе. После этого производится повторный бактериологический анализ проб этой партии.

При коли-титре менее 150 в одной из проб или 150—300 в двух и более пробах минеральная вода выдерживается 10 дней, после чего производится повторный бактериологический анализ.

Для повторных санитарно-бактериологических анализов пробы минеральной воды отбираются в количестве не менее 2 бутылок от каждых 10 тысяч бутылок. На производствах, разливающих менее 10 тысяч бутылок в смену, отбирают не менее 2 бутылок от партии, разлитой за смену.

При установлении коли-титра во всех пробах более 300 минеральная вода выпускается в реализацию.

Если при первом повторном анализе коли-титр остается 300 и менее, то последующие повторные анализы производятся не чаще, чем через 3 дня до момента получения коли-титра воды более 300.

Минеральная вода, имеющая в единичном контрольном анализе

готовой продукции коли-титр 300, может отгружаться за пределы республики при длительности доставки не менее 7 суток.

Для внутреннего рынка разрешается выпускать минеральную воду, имеющую коли-титр более 300, только непосредственно после разлива.

При получении неблагоприятных анализов минеральной воды в течение 90 дней хранения ее на складе последняя не подлежит реализации и уничтожается (выливается).

Хранение минеральной воды должно производиться в сухих складских помещениях при температуре от 5 до +12°С в лежачем положении. При таких условиях хранения минеральная вода без изменения качественных показателей и лечебных свойств может сохраниться до 1 года.

САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВЫХ И ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

Государственного стандарта по методам санитарно-бактериологического исследования сточных вод в настоящее время еще не существует. Однако деятельность бактериологических лабораторий в отношении исследования этих вод регламентируется «Санитарными правилами устройства и эксплуатации сооружений по очистке городских сточных вод», утвержденными ГСИ СССР 10 апреля 1959 г. за № 289—59. Эти правила касаются также осуществления контроля за эффективностью очистки. Производственный лабораторный контроль осуществляется лабораториями системы коммунального хозяйства по плану, согласованному с органами санитарной службы. Программа лабораторных исследований разрабатывается в зависимости от состава сточных вод, степени их очистки и категории водоемов, в которые они поступают.

Бактериологическому исследованию, согласно приведенным санитарным правилам № 289-59, подвергаются:

а) сточные воды, поступающие на очистные сооружения;

б) вода на конечном этапе очистки ее после обеззараживания, когда ожидается резкое снижение количества сапрофитной микробной флоры, повышение числового значения титра кишечной палочки и полное освобождение осветленной сточной жидкости от патогенных микробов.

С целью проверки эффективности работы отдельных звеньев очистных сооружений проводятся также контрольные исследования сточной жидкости на промежуточных этапах очистки.

Бактериологи производственных лабораторий при контроле процессов, протекающих на отдельных этапах очистки, должны изучать основные бактериальные комплексы, определяющие направление процесса очистки, и в соответствии с требованиями технологии создавать оптимальные условия для их развития. Последним этапом изучения эффективности работы очистного сооружения яв-

ляется оценка его влияния на режим водоема, в который, в конечном итоге, поступают осветленные стоки. Для этого необходимо производить исследование проб воды, отобранных в месте выпуска стока, выше выпуска и ниже его по течению с целью установления зоны бактериального загрязнения водоема.

Объем бактериологического исследования сточных вод как для лабораторий системы коммунального хозяйства, контролирующих эффективность процесса очистки стоков на очистных сооружениях, так и для лабораторий санитарно-эпидемиологических станций определяется требованиями упомянутых выше санитарных правил. Помимо определения общего количества сапрофитных микроорганизмов в 1 *мл* и титра кишечной палочки, периодически производится исследование обеззараженной сточной воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы, бацилл сибирской язвы и других видов болезнетворных микроорганизмов в зависимости от предполагаемого загрязнения поступающих на очистку стоков.

Сточная вода, как и вода открытого водоема, отбирается для бактериологического анализа с соблюдением правил асептики в стерильные склянки емкостью 250 *мл*. При этом сточные воды, поступающие на очистные сооружения, и жидкость в процессе очистки отбираются в объеме не более 100 *мл*. Осветленная сточная жидкость после обеззараживания отбирается в количестве 500 *мл*. В случае отбора хлорированной воды прибавляют в стерильную бутылку предварительно необходимое количество дехлоратора (см. выше).

Характерной особенностью сточных вод, кроме большого содержания смеси органических и неорганических веществ во взвешенном и коллоидном состоянии, является присутствие в них огромного количества микробов. Перед посевом поэтому сточная вода должна быть предварительно разведена в тысячи и сотни тысяч раз стерильной водой (при проведении научно-исследовательских работ для разведения применяют специальные растворы).

Опыт работы показывает, что наиболее целесообразно посев сточной воды производить в разведениях 1 : 1000 и 1 : 100 000. Каждое разведение необходимо засевать на 2 чашки. Техника приготовления разведений и приемы посева подробно описаны выше (см. определение микробного числа питьевой воды).

Посевы выращивают 24 часа при 37°С. Параллельно посев тех же разведений сточной воды выдерживается при 20°С в течение 48 часов. Затем подсчитывают выросшие колонии как обычно.

Для определения титра кишечной палочки сточной воды рекомендуется пользоваться двумя методами, а именно:

1. Трехэтапным бродильным методом.
2. Методом прямого посева на фуксин-сульфитный агар.

При исследовании бродильным методом в разведенную глюкозопептонную среду (Эйкмана) засевают следующие объемы сточной воды до и после очистки — по 1 *мл* из разведений 1 : 1000; 1 : 10 000; 1 : 1 000 000 и больше.

Хлорированная сточная вода засевается в объеме: 100 *мл* (10 объемов по 10 *мл*); 1 *мл*; 0,1 и 0,001 *мл*.

Дальнейший ход исследования такой же, как и при анализе питьевой воды (см. выше).

Метод прямого посева на среду Эндо. Исследование производится, как описывалось выше, причем на среду Эндо засевают по 1 *мл* воды из каждого ее разведения (от 1 : 1000 до 1 : 1000 000 и больше).

Примечание. Посевы хлорированной сточной воды выращивают при 37°С.

Для расчета титра кишечной палочки учитываются все ее разновидности. Внимание обращается на колонии с металлическим блеском, красные, серовато-красные, розовые и слизистые.

Санитарно-бактериологическое исследование промышленных сточных вод производится по специальному заданию. Важное значение это исследование имеет тогда, когда изучается влияние промышленных стоков на водоемы.

Сточные воды промышленных предприятий могут иметь щелочную или кислую реакцию и, кроме того, содержать различные химические вещества, обладающие бактерицидными свойствами. Это отрицательно сказывается на размножении микрофлоры. Перед проведением анализа такой воды следует получить сведения о ее pH и в случае необходимости произвести предварительно нейтрализацию ее. В дальнейшем, как обычно, производят посев неразведенной (1 *мл*) и разведенной воды в глюкозо-пептонную среду (для определения коли-титра) и в 1,5% мясо-пептонный агар (для определения общего количества бактерий).

Таблица 31

Расчет коли-титра для сточных вод

Общий объем 0,1111 *мл* (0,1; 0,01; 0,001 и 0,0001)

0,1	0,01	0,001	0,0001	коли-индекс	коли-титр
—	—	—	—	менее 9 000	более 0,11
—	—	—	+	9 000	0,111
—	—	+	—	9 000	0,111
—	+	—	—	9 500	0,105
—	—	+	+	18 000	0,056
—	+	—	+	19 000	0,053
—	+	+	—	22 000	0,046
+	—	—	—	23 000	0,043
—	+	+	+	28 000	0,036
+	—	—	+	92 000	0,011
+	—	+	—	94 000	0,010
+	+	—	+	180 000	0,006
+	+	+	—	230 000	0,004
+	+	—	+	960 000	0,001
+	+	+	—	2 380 000	0,0004
+	+	+	+	более 2 380 000	менее 0,0004

Таблица 32

Расчет коли-титра для сточных вод

Общий объем 0,01111 (объемы 0,01; 0,001; 0,0001 и 0,00001 *мл*)

0,01	0,001	0,0001	0,00001	коли-индекс	коли-титр
—	—	—	—	менее 90 000	более 0,0111
—	—	—	+	90 000	0,0111
—	—	+	—	90 000	0,0111
—	+	—	—	95 000	0,0105
—	—	+	+	180 000	0,0056
—	+	—	+	190 000	0,0058
—	+	+	—	220 000	0,0046
+	—	—	—	280 000	0,0043
—	+	+	+	280 000	0,0036
+	—	—	+	920 000	0,0011
+	—	+	—	940 000	0,0010
+	—	+	+	1 800 000	0,0006
+	+	—	—	2 300 000	0,0004
+	+	—	+	9 600 000	0,0001
+	+	+	—	23 800 000	0,00004
+	+	+	+	более 23 800 000	менее 0,00004

Таблица 33

Расчет коли-титра для сточных вод

Общий объем 0,001111 (объемы по 0,001; 0,0001; 0,00001 и 0,000001 *мл*)

0,001	0,0001	0,00001	0,000001	коли-индекс	коли-титр
—	—	—	—	менее 00 000	более 0,00111
—	—	—	+	900 000	0,00111
—	—	+	—	900 000	0,00111
—	+	—	—	950 000	0,00105
—	—	+	+	1 800 000	0,00056
—	+	—	+	1 900 000	0,00053
—	+	+	—	2 200 000	0,00046
+	—	—	—	2 300 000	0,00043
—	+	+	+	2 800 000	0,00036
+	—	—	+	9 200 000	0,00011
+	—	+	—	9 400 000	0,00010
+	—	+	+	180 000 000	0,00006
+	+	—	—	23 000 000	0,00004
+	+	—	+	96 000 000	0,00001
+	+	+	—	238 000 000	0,000004
+	+	+	+	более 238 000 000	менее 0,000004

Исследование хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод на наличие патогенной микрофлоры проводят по методам, изложенным выше. Присутствие патогенных микробов в сточных водах легче всего можно обнаружить по наличию соответствующих бактериофагов.

При исследовании хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод на фекальное загрязнение необходимо пользоваться схемами расчета коли-титра, приведенными в таблицах 31, 32 и 33. Результаты анализа регистрируются в журнале по следующей форме:

Дата исследования	Место взятия пробы	Степень разведения	Число колоний на отдельных чашках	Среднее число бактерий в 1 *мл* исследуемой пробы	Титр кишечной палочки	Примечание

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО И КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ ВОДЫ ПРЯМЫМ МИКРОСКОПИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Непосредственный счет микроорганизмов воды под микроскопом при его систематическом применении позволяет получить не только представление о количественном и качественном составе микрофлоры воды, но и определить с достаточной быстротой (в течение $2^1/_2$ часов) происходящие в водоеме изменения (загрязнения). Кроме того, этот метод позволяет своевременно отметить как изменение природного биологического режима изучаемого водоема, так и нарушение нормальной работы очистных сооружений водопровода.

Необходимое оборудование. Для выполнения исследований прямым микроскопическим методом, кроме широко используемой в лабораториях аппаратуры, приборов и инструментов, необходимо иметь следующие принадлежности:

1. Осветитель для микроскопа ОИ-7 или ОИ-19,
2. Светофильтр синий.
3. Микрометры: линейный объект-микрометр и сетчатый окулярный микрометр.
4. Фильтровальный аппарат типа Пельша-Долгова с диаметром фильтрующей площади 10 *мм*.
5. Воронка Бюхнера диаметром 7—8 *см*.
6. Склянки с притертыми или каучуковыми пробками емкостью 50—100 *мл*.
7. Желтая кровяная соль $K_4[Fe(CN)_6]$ — 3—4% водный раствор.
8. Кислота соляная — 5% раствор.
9. Эритрозин для микроскопии — 2% водный раствор.
10. Канадский бальзам импортный.
11. Ксилол (орто).
12. Вода дистиллированная.
13. Формалин — 40% раствор.
14. Бумага фильтровальная (высшего сорта).

При отборе проб для исследования используются хорошо вымытые, обработанные паром (Родина, 1950) сухие склянки объемом на 50—100 *мл* с прикрепленными притертыми или резиновыми пробками.

Опыт проведенной работы показывает, что при специальном изучении бактериопланктона крупного водоема целесообразно отбирать среднюю пробу в количестве одного литра. При необходимости транспортировать или некоторое время хранить отобранную пробу в момент отбора к воде добавляют профильтрованный раствор 40% формалина в количестве одного процента по отношению к количеству отобранной воды.

Приготовление препарата для микроскопии. Наибольшее постороннее бактериальное загрязнение, притом неустранимое, может быть внесено в препарат с мембранным фильтром (Крисс, 1959). Поэтому серия фильтров, подготовляемая для микроскопического исследования воды, должна быть предварительно проверена на бактериальное загрязнение (Родина, 1950) и храниться в условиях наименьшего загрязнения. Дистиллированная вода должна быть профильтрована через мембранный фильтр; реактивы, раствор краски, ксилол, канадский бальзам, кедровое масло должны быть также, по возможности, проверены (Яковенко, 1959), а загрязненные бактериально — забракованы.

Концентрирование бактерий, содержащихся в исследуемой пробе воды, на небольшом пространстве мембранного фильтра можно производить при помощи фильтровальных аппаратов Рублевской насосной станции или типа Зейтца. По Разумову (1947, 1960), для этих целей лучше пользоваться прибором Пельша-Долгова, диаметр фильтрующей поверхности которого равен 10 *мм*. Фильтрование пробы воды осуществляется так, как описано выше.

При фильтрации воды для изготовления препаратов прямого счета воздух из колбы следует отсасывать медленно, иначе расположение микробных тел в препарате будет неравномерным. Наиболее целесообразно производить фильтрацию воды через мембранные фильтры № 1, как имеющие наименьший размер пор (0,35μ).

Перед фильтрацией пробы воды, подвергавшейся хранению, ее необходимо взбалтывать в течение трех минут. При работе со свежевзятыми пробами взбалтывать следует осторожно, чтобы получить в препарате картину расположения бактерий, главным образом, зооглей, которые встречаются в загрязненной воде.

Разумов (1947) на основании опыта своей работы рекомендует подвергать фильтрации различные количества исследуемой воды:

Типы водоисточников	Объем воды в *мл* при диаметре фильтров 2,5—3 *см*	Объем воды в *мл* при диаметре фильтров 1 *см*
Артезианские воды, ключи, родники, вода сборного резервуара водопровода	100—50	20—10
Чистые районы рек, озер, прудов	20—10	5—1,0
Сточные воды и загрязненные водоемы	1,0—0,01 и менее	1—0,1 и менее

Высушенный фильтр подвергается сразу же окрашиванию. Обычно окрашивают весь фильтр, который в дальнейшем может быть разрезан на несколько частей, соответствующих величине покровного стекла. Для окрашивания применяют эритрозин в виде 1—2% водного или карболового раствора. Эритрозин для микроскопии — кислая краска красного цвета, обладающая особым сродством к протоплазме. Она не окрашивает капсулы и бактериальную слизь. Эти качества эритрозина дают возможность дифференцировать бактериальные формы, включенные в слизистые скопления (зооглеи). Эритрозин окрашивает и коллоиды органического происхождения, однако после промывания препарата водой окраска их значительно ослабевает, чем отличается от окраски бактериальных форм, сохраняющих яркость. Минеральные частицы совсем не окрашиваются эритрозином.

Наиболее распространен способ окрашивания препаратов при комнатной температуре в 1% растворе эритрозина на 5% карболовой воде для фиксации и протравы препарата. Продолжительность окрашивания при этом 1 час. Окрашивание можно проводить и при нагревании. При этом пользуются 2% раствором эритрозина в дистиллированной воде, причем время окрашивания сокращается до 5—10 минут. При горячем способе окрашивания целесообразно поместить фильтр на фильтровальной бумаге, пропитанной эритрозином, в воронку Бюхнера, укрепленную герметично в отверстии круглодонной колбы, в которой кипит дистиллированная вода. Пар свободно проникает в нижние отверстия воронки и прогревает окрашиваемый препарат.

Окончив окрашивание, фильтр освобождают от избытка краски, перекладывая его повторно с влажной, пропитанной дистиллированной водой бумаги на сухую фильтровальную бумагу. Такой прием значительно ускоряет процесс удаления излишков краски с препарата.

Промывание считается оконченным, когда нижняя сторона окрашенного фильтра будет почти обесцвечена, как и поля фильтра.

Важным этапом является тщательное высушивание промытого фильтра, необходимое для полного просветления препарата канадским бальзамом или иммерсионным маслом. Влажный фильтр не будет хорошо просматриваться при микроскопировании. Для экономии времени фильтр можно (в условиях тщательного наблюдения) высушить в термостате при температуре около +45°С в течение нескольких минут.

Микроскопическое исследование препарата. Тщательно высушенный фильтр разрезается на части и заключается на предметном стекле в канадский бальзам или кедровое масло. Если не требуется хранения препарата, проще использовать кедровое масло (кедроль). Если препарат необходимо сохранить, то на обезжиренное, чистое предметное стекло наносят одну каплю канадского бальзама умеренной густоты. При сгущении канадского бальзама к нему добавляют несколько капель ксилола (орто).

На поверхность капли, положенной на предметное стекло, накладывают фильтр окрашенной поверхностью кверху. Затем на фильтр наносят вторую каплю канадского бальзама, после чего препарат покрывают (накатом) чистым покровным стеклом, избегая образования под ним пузырьков воздуха.

При приготовлении препарата на поверхность покровного стекла (особенно при густом бальзаме) ставят небольшой груз из свинца или гирьку. При этом слой бальзама должен соответствовать размеру покровного стекла.

Просмотр под микроскопом производится, когда канадский бальзам затвердеет. Если препарат хорошо просушен, достигается полное его просветление.

Подсчет бактериальных форм делается при увеличении около 1000 раз. Для этого используют иммерсионный объектив — 90х с иммерсионным маслом при окуляре 15 х и сетчатом окулярном микрометре. Освещение получают с помощью осветителя ОИ-7 или ОИ-19 при синем светофильтре, что увеличивает контрастность поля зрения и смягчает резкость освещения.

Препарат помещают на предметный столик микроскопа так, чтобы центр его совпадал с центром сетки окулярного микрометра, т. е. находился бы в поле зрения микроскопа. Рекомендуется просчитывать бактерии на всей площади окулярного микрометра в пределах 16—20 квадратов, передвигая препарат с помощью крестообразного столика.

С. А. Разумов считает необходимым подсчет бактерий делать в малых счетных квадратах сетки микрометра, если в каждом из них имеется 10—25 бактерий. Количество таких просчетов должно быть от 25 до 50, чтобы вывести среднее арифметическое число для одного малого квадрата микрометра.

При таком способе подсчета «s-малое» будет обозначать площадь малого счетного квадрата, а не всю площадь окулярного микрометра. Очевидно, этот прием должен быть использован при значительно большем количестве микробного населения в исследуемой пробе воды.

Результаты первичного подсчета заносятся в рабочую тетрадь. Итоговые данные регистрируют в лабораторном журнале.

Расчет количества микробов в 1 *мл* воды. Расчет количества микробов в 1 *мл* воды производится по формуле:

$$X = \frac{S \cdot n}{s \cdot V} = K \cdot \frac{n}{V},$$

где

X — число бактерий в 1 *мл* воды;
S — фильтрующая площадь прибора в квадратных микронах (μ^2);
s — площадь счетного квадратика окулярного микрометра (в μ^2);
V — объем профильтрованной воды в *мл*;
n — арифметическое среднее из 25—50 просчетов количества бактерий в счетных квадратиках.

В каждом счетном квадратике не должно быть больше 30 клеток бактерий. Если их больше 30, надо профильтровать меньший объем воды. Если их меньше 5, надо профильтровать большее количество воды или объединять при подсчете группы из 4—8 квадратиков.

$K = \frac{S}{s}$ — величина постоянная при пользовании одним и тем же фильтрационным прибором и подсчете микробов при одном и том же увеличении микроскопа. Коэффициент «К» значительно упрощает вычисления.

Размер малого счетного квадратика окулярного микрометра, как и размер всей площади окулярного микрометра, при рабочей комбинации определенных объективов и окуляров находят с помощью линейного объект-микрометра, представляющего собою предметное стекло, на котором нанесена шкала длиною в 1 *мм*, разделенная на 100 частей, из которых каждая равна 0,01 *мм*, что соответствует 10 микронам (μ).

При калибрировании сетчатого окулярного микрометра на предметном столике микроскопа помещают объект-микрометр так, чтобы одно из его делений совпало с одной из сторон счетного квадрата окулярного микрометра.

Подсчитывают количество совпадающих делений, из которых каждое, как известно, равно десяти микронам. Определив длину одной из сторон счетного квадрата окулярного микрометра, находят его площадь в квадратных микронах (μ^2). Таким образом узнают величину «s-малого». S — размер фильтрирующей площади прибора, определяется по формуле πR^2.

Использование прямого счета бактерий при санитарной оценке воды.

Метод прямого счета бактерий воды еще мало используется в практике санитарных исследований природных и искусственных водоемов, а также для контроля работы сооружений на отдельных этапах очистки воды. Это объясняется тем, что микроскопическое исследование воды не позволяет обнаружить разницы между мертвыми и живыми микробами, а также отсутствием общепризнанных санитарных нормативов по количеству бактериопланктона. Между тем преимущество этого метода в сравнении с посевом воды на общепринятые питательные среды состоит в том, что он открывает всю массу микробиального населения, участвующего в общем круговороте веществ, происходящем в водоеме. По мнению А. С. Разумова, «количество мертвых бактерий вряд ли может быть большим в обычных условиях». И надо полагать, что в ряде случаев метод прямого счета бактерий воды может быть с успехом использован в санитарной практике.

Количество бактериального планктона в 1 *мл* воды выражается суммой всех бактериальных форм, обнаруженных в препарате при его микроскопировании. Одновременно с учетом общего количества бактерий в препарате определяют раздельно легко различимые по морфологии группы: кокки и палочки, представляю-

щие в природных водах основную массу водной микрофлоры. В препаратах из загрязненной воды могут быть обнаружены вибрионы, спириллы, нитчатые бактерии, дрожжи, мицелий плесневых грибков. Споры бактерий обнаруживаются с трудом, вследствие плохого прокрашивания их эритрозином. Накопленный исследователями опыт позволяет в известной мере использовать данные прямого микроскопического метода исследования воды при характеристике санитарного состояния водоема.

Так, Л. Е. Корш (1959) указывает, что общее количество бактерий, определенное ею прямым методом в умеренно загрязненных водах, колебалось в пределах от 2 до 8 миллионов на 1 *мл*, в сильно загрязненной воде — от 8 до 20 миллионов на 1 *мл*. Показателем отсутствия загрязнения водоема автор считает преобладание в препаратах кокковых форм бактерий (до 85% всей бактериальной массы). А. С. Разумов (1948) находил в чистых местах водохранилища до 50% кокковых форм.

Второй группой микробов, с наибольшим постоянством обнаруживаемой в препаратах при подсчете бактериопланктона, являются палочки. По мнению А. С. Разумова, эта группа микробов, «повидимому», наиболее близка к сапрофитам, их присутствие является показателем начальной стадии распада легко разлагаемых органических веществ. Поэтому соотношение кокковых и палочковых форм следует выводить в % от общего количества микробов в 1 *мл* воды. Таким образом, морфологическая характеристика бактериального планктона оказывается полезной для оценки качества исследуемой воды.

Вторым важным элементом при оценке гигиенических качеств воды является количественное соотношение бактериопланктона и так называемого «микробного числа», т. е. количества микробов, выросших в 1,5% мясо-пептонном агаре при посеве 1 *мл* воды.

Закономерность между этими двумя показателями бактериального обсеменения воды выражается в том, что в наиболее чистых водах величины этих показателей резко расходятся, при сильном загрязнении оба показателя сближаются. Исследование бактериального планктона поэтому более целесообразно производить в водах чистых и умеренно загрязненных.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ ЛАБОРАТОРИИ. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ И СПОСОБЫ ИХ ИЗГОТОВЛЕНИЯ

Приборы, аппараты и инструментарий

Лаборатория, в которой производятся санитарно-бактериологические исследования воды, должна иметь следующие приборы, аппараты и инструментарий:

1. Автоклав с манометром для стерилизации паром под давлением по ГОСТ 341—44.
2. Аппарат для стерилизации текучим паром с термометром до 110—120°С.
3. Шкаф сушильный для стерилизации сухим жаром с термометром до 200°С по ГОСТ 215—41.

4. Термостаты (два) для выращивания посевом при 37 и 43°С и термометрами до 60—100° с делениями до 0,5°.

5. Аппараты фильтровальные системы Рублевской насосной станции с диаметром фильтрующей площади 30 *мм* в количестве, соотвествующем числу одновременно обрабатываемых проб. Эти аппараты предназначены для работы с мембранными фильтрами.

6. Вакуум-насос (водоструйный или масляный системы Комовского). Для тех же целей могут быть использованы электроотсасыватель или насос Шинца.

7. Агглютиноскоп.

8. Микроскоп иммерсионный биологический типа МБИ-1, МБИ-4 или МБИ-3.

9. Батометры — приборы для отбора глубинных проб воды.

10. Камера для счета колоний микробов (Вольфюгеля).

11. Лупа ручная с увеличением не менее 5х или бинокулярная лобная.

12. Ящик для транспортирования проб с резиновыми мешками для льда или горячей воды.

13. Бактериологические петли из платиновой проволоки диаметром 0,5—0,8 *мм* (по ГОСТ 492—417). В случае отсутствия платины их можно готовить из хромово-никелевой проволоки той же толщины (спираль электроплитки).

14. Аппарат для определения pH питательных сред(компаратор Михаэлиса). Для тех же целей предназначен потенциометр.

15. Мембранные ультрафильтры.

16. Штативы металлические и деревянные для пробирок.

17. Спиртовая горелка.

18. Электрическая плитка.

19. Перегонный куб — аппарат, предназначенный для получения дистиллированной воды.

20. Пинцеты глазные тонкие.

21. Пинцеты анатомические.

22. Ножницы хирургические.

23. Трубка резиновая толстостенная для вакуум-насоса.

24. Сверло пробочное диаметром 17—19 *мм*.

Бактериологическая посуда

В лаборатории, наряду с обычной химической посудой (различными склянками, воронками, фарфоровыми и стеклянными стаканами, цилиндрами и т. п.), должна быть специальная так называемая бактериологическая посуда. Эта посуда предназначена прежде всего для выращивания микроорганизмов. К числу необходимой посуды относятся:

1. Чашки Петри (бактериологические), радиус которых обычно равен 5 *см*, по ОСТ 10061—39 в количестве, превышающем в 4 раза число одновременно обрабатываемых проб.

2. Пробирки бактериологические длиною в 16 *см* и диаметром в 1,6 *см* по ОСТ НКТП 8187—11131 в количестве, превышающем в 10 раз число одновременно обрабатываемых проб.

3. Пробирки серологические длиною в 12 *см* и диаметром в 1*см*.

4. Бродильные рожки емкостью на 10 и 100 *мл* в достаточном количестве, что определяется применяемыми схемами посева воды. В случае отсутствия бродильных рожков их можно заменить бактериологическими пробирками (для объемов до 10 *мл*) и коническими колбами или флаконами емкостью на 200—250 *мл* (для объемов 100 *мл*).

5. Поплавки — стеклянные трубки, запаянные с одного конца, размером 20 или 75 *мм* с диаметром соответственно 5 или 10 *мм*, предназначенные для улавливания газа при брожениии

6. Склянки с притертыми пробками или бутылки с каучуковыми пробками емкостью на 500 *мл*. Количество склянок (бутылок) должно соответствовать числу одновременно отбираемых проб.

7. Пипетки измерительные бактериологические:

а) емкостью на 1 *мл* с делениями до 0,1 *мл;*

б) емкостью на 10 *мл* с делениями до 0,1 *мл;*

в) емкостью на 50 или 100 *мл* с одной меткой (по ГОСТ 1770—42).

Количество пипеток должно превышать в полтора раза число одновременно обрабатываемых проб.

8. Колбы Бунзена емкостью на 0,5—1 л.

9. Колбы стеклянные круглодонные и конические емкостью на 1—3 л для питательных сред.

10. Воронки для горячего фильтрования и разливки питательных сред.

11. Кастрюли эмалированные емкостью на 2—5 л для питательных сред.

12. Стекла предметные и покровные.

13. Пробки резиновые диаметром 30—36 *мм*.

Реактивы и материалы

К важнейшим предметам относятся также некоторые реактивы и материалы, используемые для приготовления питательных сред, а также анилиновые краски. Из них наибольшее значение имеют:

1. Натрий хлористый по ГОСТ 4233—49.
2. Натрий едкий по ГОСТ 4328—48.
3. Натрий сернистокислый (натрий-сульфит) кристаллический по ГОСТ 429-41 или безводный по ГОСТ 195—41.
4. Натрий углекислый по ГОСТ 84—41.
5. Углеводы химически чистые (глюкоза, лактоза, маннит, сахароза).
6. Пептон для питательных сред.
7. Агар бактериологический по ГОСТ 6470—53.
8. Желчь нативная от любого вида животного.
9. Спирт ректификованный 96°.
10. Масло иммерсионное (кедровое).
11. Кислота розоловая.
12. Йод металлический.
13. Калий йодистый.
14. Фуксин основной, генициан-виолет.
15. Бромтимоловый синий, метиловый красный.

Все реактивы, применяемые для изготовления питательных сред, должны быть химически чистыми. Пригодность материалов и реактивов, используемых для бактериологических целей, необходимо установить предварительным их испытанием. Каждую новую партию питательных сред следует сравнивать с ранее изготовленными методом посева. Результаты этой проверки необходимо регистрировать в отдельном журнале.

Стерилизация посуды и питательных сред

Вся лабораторная посуда (склянки, бутылки, флаконы, пробирки, пипетки, чашки), используемая в санитарно-бактериологических лабораториях, должна выдерживать стерилизацию. Перед стерилизацией посуда должна быть тщательно вымыта и высушена.

Сосуды (склянки или обычные бутылки) для отбора проб воды емкостью на 0,5 *л* закрывают ватно-марлевыми пробками. Верхнюю часть горлышка вместе с пробкой покрывают бумажным колпачком и обвязывают шпагатом. Для удобства хранения и доставки проб воды рекомендуется каждую бутылку снабжать заранее подобранной запасной притертой или резиновой пробкой. Последняя аккуратно завертывается в бумагу и привязывается к горлышку бутылки, с которой она подвергается стерилизации.

В тех случаях, когда предстоит отбор пробы из открытого водоема, перед стерилизацией посуды к ватно-марлевой пробке привязывают длинный тонкий шпагат. Вместе с горлышком бутылки он завертывается бумагой и обвязывается ниткой. Затем каждая бутылка упаковывается в отдельный бумажный пакет и подвергается стерилизации.

При отсутствии посуды указанной емкости с успехом могут быть использованы флаконы объемом на 200 *мл*, взятые в соответствующем количестве.

Бактериологические чашки по несколько штук завертываются в бумажные

пакеты (можно каждую в отдельности). Для завертывания градуированных пипеток используют бумажные ленты шириной 5 *см*. Пипетки завертывают по одной или несколько штук. Особое внимание обращается на завертывание носика пипетки. Верхний конец пипетки предварительно закрывается ватной пробкой. Можно стерилизовать пипетки и небольшими партиями в индивидуальном бумажном пакете или специальном металлическом пенале.

Стерилизация посуды производится в сушильном шкафу при 160° С в течение 1 часа или в автоклаве при 1 *атм* в течение 30 минут. При правильно произведенной стерилизации в сушильном шкафу бумага, в которую завертывается посуда, слегка буреет. После автоклавирования посуда вместе с оберточной бумагой просушивается.

Стерильная посуда вынимается из бумажного пакета непосредственно перед отбором пробы воды или в момент производства анализа. При этом снимается с горлышка бутылки бумажный колпачок и запасная резиновая пробка (в завернутом виде).

Стерилизация питательных сред, содержащих углеводы (глюкозо-пептонная среда Эйкмана и др.), производится текучим паром при 100°С в течение 30 минут, три дня подряд. В промежутках между стерилизацией среды должны храниться при температуре не ниже +16°С. Стерилизовать среды с углеводами при 0,6 *атм* не рекомендуется, так как может наступить карамелизация углеводов. Все питательные среды, не содержащие углеводов, стерилизуются при 120°С (в автоклаве) в течение 30 минут.

Стандартные питательные среды и индикаторы для бактериологических исследований воды

При производстве санитарно-бактериологического исследования воды пользуются жидкими и плотными питательными средами. Из жидких сред употребляются мясо-пептонный бульон и глюкозо-пептонная среда Эйкмана. Наиболее употребительными плотными средами являются мясо-пептонный агар, фуксин-сульфитная среда Эндо и розоловый дифференциальный агар Киченко.

Приготовление стандартных питательных сред осуществляется по следующей прописи.

1. **Стерильная вода** (для приготовления разведений). Водопроводную воду (колодезную, речную) разливают в пробирки по 9 *мл* и в колбы по 100 *мл*, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют в автоклаве, как указано выше.

2. **Мясная вода.** Мясо, освобожденное от жира и сухожилий, пропускают через мясорубку. Вместо мяса можно использовать свежую плаценту или кровяные сгустки. Плаценту освобождают от оболочек и нарезают на мелкие кусочки. Сгустки отделяют от сыворотки и пропускают через мясорубку.

Мясной фарш заливают двойным объемом водопроводной воды (на 1 *кг* фарша берут 2 *л* воды). Смесь настаивают сутки при комнатной температуре. После этого воду с фаршем нагревают до кипения и фильтруют через плотное полотенце. Оставшуюся на фильтре массу тщательно отжимают для извлечения питательных

веществ. Объем полученной мясной воды (фильтрата) доводят до 2 *л* и, если желают сохранить ее впрок, разливают во флаконы, стерилизуют при 120°С в течение 30 минут.

Из мясной воды готовят мясо-пептонный бульон. Мясная вода имеет слабокислую реакцию; поэтому при приготовлении бульона ее подщелачивают (по лакмусу) 10% раствором двууглекислой соды или 4% раствором едкого натра.

3. **Мясо-пептонный бульон (МПБ).** К 1 *л* слабощелочной мясной воды добавляют 10 *г* пептона и 5 *г* хлористого натрия; смесь кипятят при помешивании до полного растворения ингредиентов, устанавливают pH = 7,2—7,4, фильтруют через бумажный фильтр, разливают во флаконы или в пробирки по 4—5 *мл* и стерилизуют, как указано выше.

4. **Мясо-пептонный агар (МПА).** К 1 *л* мясо-пептонного или плацентарного бульона прибавляют 15—20 *г* (в зависимости от сорта) мелко нарезанного агар-агара и кипятят при помешивании до полного растворения. Рекомендуется растворять агар-агар в аппарате для стерилизации текучим паром или в автоклаве, не закрывая крана для выпуска пара. Установив pH = 7,2—7,4, расплавленный агар в горячем виде фильтруют через ватно-марлевый фильтр, предварительно смоченный теплой водой. Фильтрат доводят до исходного объема водой, если он прозрачный, разливают во флаконы или пробирки, стерилизуют, как указано выше.

В тех случаях, когда после фильтрации агар остается мутным, его подвергают осветлению, используя способ отстоя и коагулирования. Для этого к остывшему до 50°С агару прибавляют сывороточный или яичный белок (на 1 *л* агара берут взбитый с небольшим количеством воды белок одного яйца), хорошо взбалтывают и помещают на 5 минут в автоклав при 120°С. Белок во время кипячения свертывается и увлекает за собой взвешенные хлопья. После коагулирования и отстоя смесь отфильтровывают через ватно-марлевый фильтр, как указано выше.

Реакция питательных сред, в том числе и мясо-пептонного агара, устанавливается колориметрически с помощью компаратора Михаэлиса. При установлении реакции агара в небольшой (3—5 *мл*) объем его, разбавленный вдвое горячей дистиллированной водой, добавляют по каплям 0,5% раствор едкого натра или 10% раствор соды до необходимого pH. Затем вычисляют, какой объем щелочи необходимо прибавить ко всему количеству среды для получения требуемой реакции. После прибавления щелочи всю среду тщательно перемешивают и вновь проверяют реакцию описанным выше способом.

5. **Глюкозо-пептонная среда Эйкмана (ГПС).** Эта среда готовится в двух видах, а именно: концентрированная и разведенная (нормальная).

Концентрированная ГПС. В 1 *л* водопроводной воды растворяют 100 *г* пептона и 50 *г* хлористого натрия, отфильтровывают через бумажный фильтр или вату, добавляют 50 *г* глюкозы, устанавливают pH в пределах 7,4—7,6 и разливают по 10 *мл* во флаконы

емкостью на 150—200 *мл* с поплавками и по 1 *мл* в пробирки с поплавками, стерилизуют текучим паром.

Разведенная ГПС может быть приготовлена путем разбавления концентрированной среды. С этой целью к 1 части концентрированной среды добавляют 9 частей стерильной дистиллированной воды.

6. **Фуксин-сульфитный агар (Эндо).** К 100 *мл* расплавленного мясо-пептонного агара добавляют 0,5 *г* лактозы (предварительно растворенной в 2—3 *мл* стерильной воды) и подогревают на водяной бане при 100°С в течение 5 минут, смесь охлаждают до 70°С и добавляют 0,5 *мл* насыщенного 10% спиртового раствора основного фуксина, обесцвеченного в отдельной пробирке до бледно-розового оттенка 10% водным раствором сернистокислого безводного натрия. Содержимое колбы взбалтывают и разливают по чашкам. Для подсушивания среды чашки полуоткрытыми помещают на 30 минут в термостат при 37°С.

Готовая среда должна иметь кремовый цвет с легким розовым оттенком. Ярко-розовую или красную среду употреблять не следует, так как в ней лейкосоединение, содержащее фуксин, уже разрушено. Пригодность среды Эндо можно испытать, поместив на поверхность чашки кружок фильтровальной бумаги, смоченный 2% раствором формалина. Если вокруг кружка в течение 10 минут появится ореол красного цвета с металлическим блеском в зоне до двух миллиметров, среда может быть признана хорошей.

7. **Розоловый односахарный агар.** К 1 *л* мясо-пептонного агара (pH = 7,4—7,6) несколько меньшей плотности, чем обычно, но достаточной для того, чтобы он не рвался под шпаделем при посеве, добавляют 50 *мл* стерильной желчи, 10 *г* лактозы, 2 *мл* 5% спиртового раствора розоловой кислоты и 2 *мл* 1% раствора бромтимолблау. Содержимое перемешивают и после растворения ингредиентов стерилизуют в автоклаве при 0,5 *атм* в течение 10—15 минут. Готовую среду разливают по чашкам.

Правильно приготовленная среда имеет коричнево-красный цвет. Среду можно готовить без бромтимолблау, цвет ее будет бледно-розовым. Если среда серовато-желтого цвета, то ее pH ниже 7,2; если красного, то ее pH выше 7,6. В первом случае среду надо подщелочить 10% раствором едкого натра или углекислой соды. Во втором случае необходимо подкислить 10% раствором соляной кислоты до нужного оттенка.

Примечание. а) Если среда готовится из сухого питательного агара, то на 1 *л* воды берется 40 *г* порошка данного препарата.

б) Раствор розоловой кислоты должен быть свежеприготовленным, так как при хранении свыше месяца он становится токсичным для микробов кишечной группы.

Сухие питательные среды. Стандартность, простота хранения, транспортировки и пользования сухими средами делают их весьма удобными для работы.

Сухие питательные среды представляют собой гигроскопические порошки. В хорошо закупоренной посуде и сухом месте их можно

хранить длительное время. Пригодными являются такие порошки сухих сред, которые хорошо растворяются в дистиллированной воде при комнатной температуре.

Наиболее часто употребляются сухие среды, выпускаемые институтом эпидемиологии и микробиологии им. акад. Н. Ф. Гамалея (Москва) и Дагестанским научно-исследовательским институтом по производству питательных сред (Махачкала). К таким средам относятся:

1. **Сухой питательный бульон.** Из сухого питательного бульона готовят обычный мясо-пептонный бульон. Для этого 25 *г* порошка бледно-желтого цвета вносят в 1 *л* холодной дистиллированной воды, взбалтывают, растворяют его при медленном подогревании, проверяют pH среды, если требуется, фильтруют, разливают во флаконы или в пробирки и стерилизуют при 120° в течение 30 минут.

2. **Сухой питательный агар.** К 1 *л* холодной дистиллированной воды добавляют 50 *г* порошка, тщательно взбалтывают, нагревают до расплавления и устанавливают pH. Далее с целью освобождения от осадков целесообразно прогреть среду в автоклаве при 1,5 *атм* в течение 30 минут. Затем, дав среде несколько минут отстояться, в горячем виде фильтруют ее через ватно-марлевый фильтр, предварительно увлажненный теплой водой, разливают во флаконы или пробирки и стерилизуют при 1 *атм* в течение 30 минут.

Мясо-пептонный агар, приготовленный по этой прописи, используется для поверхностных посевов.

Примечание. При глубинном посеве для заливания чашек необходимо применять менее плотный мясо-пептонный агар (1,5%), так как плотная среда (2—3%) задерживает развитие и рост микроорганизмов.

Чтобы приготовить среду менее плотной консистенции, предназначенную для глубинного посева, надо в 100 *мл* воды расплавить 5 *г* сухого питательного агара и добавить 50 *мл* готового мясо-пептонного бульона.

3. **Сухой фуксин-сульфитный агар (*Эндо*).** 5 *г* порошка светло-сиреневого цвета добавляют к 100 *мл* холодной дистиллированной воды, расплавляют при подогревании, кипятят в течение 5 минут. После охлаждения до 50°С осторожно взбалтывают и разливают в чашки. Эту среду впрок не готовят и на свету не держат. Сухую среду хранят в темном месте, так как порошок быстро портится под влиянием света.

Наряду с перечисленными сухими средами в лаборатории должны быть: сухой агар с эозин-метиленовой синей (среда Левина), сухой висмут-сульфит агар, сухой бактоагар Плоскирева и сухие препараты с индикатором ВР и углеводами (среды Гисса). Каждая из этих сред снабжена этикеткой, где указан рецепт, по которому их готовят.

Дифференциальные среды. 1. **Розоловый дифференциальный агар (РДА).** К 1 *л* 1,5% мясо-пептонного агара с pH = 7,4—7,6 добав-

ляют 5 *мл* стерильной желчи любого вида животного, 10 *г* лактозы, 1 *г* глюкозы, 2 *мл* 1% спиртового раствора индикатора бромтимолового синего и 2 *мл* 5% спиртового раствора розоловой кислоты (длительность хранения этого раствора до 1 месяца).

Содержимое колбы тщательно смешивают и после растворения всех ингредиентов проверяют среду на буферную способность. Для этого 1—2 капли среды наносят на стекло, дают ей застыть. Затем на один край застывшей среды наносят каплю 10% раствора соляной кислоты, а на другой — каплю 10% едкого натра. Если от кислоты среда желтеет сразу, а от щелочи краснеет, то она приготовлена правильно. Если пожелтение наступает медленно, то надо среду сразу же подкислить и снова проверить ее буферность. Цвет готовой среды должен быть коричнево-красным.

Готовую среду разливают в узкие пробирки (серологические) до $^1/_4$ их высоты, стерилизуют в автоклаве при 0,5 атм в течение 10 минут и хранят в вертикальном положении до застывания. Стерильность среды проверяют путем инкубации ее в термостате при 37°С в течение двух суток.

Перед употреблением среду предварительно расплавляют, а затем пробирки наклоняют так, чтобы при застывании она получила форму столбика с небольшой скошенной поверхностью вверху.

Примечание. Розоловый дифференциальный агар можно готовить и без бромтимолблау. В этом случае цвет готовой среды должен быть бледно-розовым.

2. **Среды Гисса.** К 100 *мл* дистиллированной воды добавляют 1 *г* пептона и 0,5 *г* хлористого натра, кипятят до растворения ингредиентов, устанавливают pH = 7,4, фильтруют через бумажный фильтр. Прибавляют 0,5—1 *г* соответствующего углевода (глюкоза, лактоза, маннит, сахароза) и 1 *мл* индикатора (Андредэ или бромтимолблау). Разливают в стерильные пробирки с поплавками. Стерилизуют дробно 3 дня подряд по 30 минут.

В настоящее время широко пользуются сухими средами Гисса с углеводами и индикатором ВР. Готовят их по следующей прописи: 2 *г* порошка вносят в 100 *мл* холодной дистиллированной воды, подогревают до растворения, разливают в стерильные пробирки. Стерилизуют 5 минут при 110°С.

Индикатор ВР представляет собой смесь розоловой кислоты и водной голубой краски. В кислой среде он имеет интенсивно синий цвет, а щелочной — от слабо-розового до красного.

3. **Среда Ресселя.** К 100 *мл* расплавленного мясо-пептонного агара (pH = 7,2) добавляют 1 *г* лактозы, 0,1 *г* глюкозы и 1 *мл* индикатора (лакмуса, реактива Андредэ, розоловой кислоты, бромтимолблау, «ВР»). После перемешивания разливают в пробирки высоким столбиком и стерилизуют при 0,5 атм 20 минут. Перед употреблением среду расплавляют таким образом, чтобы была скошенная поверхность для посева штрихом и столбик для посева уколом.

В процессе роста микробов цвет среды Ресселя меняется по-разному в зависимости от индикатора.

Изменение цвета столбика и скошенной поверхности среды Ресселя при использовании различных индикаторов

Индикатор	Стерильная среда		Глюкоза + лактоза —		Глюкоза + лактоза +	
	столбик	скошенная поверхность	столбик	скошенная поверхность	столбик	скошенная поверхность
Лакмус	фиолетовый	фиолетовая	красный	синяя	красный	красная
Андредэ	розоватый	розоватая	красный	бесцветная	красный	красная
Розоловая кислота	розовый	розовая	желтый	красная	желтый	желтая
Бромтимолблау	сине-зеленый	сине-зеленая	желтый	синяя	желтый	желтая
Бромтимолблау + розоловая кислота	коричнево-красный	коричнево-красная	желтый	красно-лиловая	желтый	желтая
«ВР» (розоловая кислота + водная голубая)	розовый	розовая	синий	оранжевая	синий	синяя

Примечание. Среду Ресселя можно готовить из сухих сред Гисса (препараты с лактозой и глюкозой и индикатором ВР). В этом случае берут 4 *г* порошка с лактозой и 1 *г* препарата с глюкозой, расплавляют в 100 *мл* дистиллированной воды. Разливают в стерильные пробирки по 7—10 *мл*, стерилизуют 5 минут при 100°С и затем скашивают, как указано выше.

4. **Среда Ресселя с мочевиной (по Равич-Биргер).** К 4 *г* сухой питательной среды Гисса с индикатором ВР и лактозой прибавляют 0,1 *г* химически чистой глюкозы и 1 *г* мочевины, растворяют в 100 *мл* горячей дистиллированной воды, разливают в стерильные пробирки и стерилизуют текучим паром. Горячую среду скашивают, как среду Ресселя. Цвет готовой среды должен быть ярко-розовый.

Микробы, разлагающие мочевину (протей, палочка Моргана, некоторые виды кишечной и паракишечной палочки), создают щелочную реакцию и нейтрализуют кислоту, образующуюся при расщеплении глюкозы, и как скошенная поверхность, так и столбик среды окрашиваются в красно-оранжевый или оранжевый цвет. При росте микробов, разлагающих лактозу и глюкозу (кишечная палочка), образуется кислая реакция, и вся среда (столбик и скошенная поверхность) окрашивается в синий цвет.

При росте микробов, расщепляющих только глюкозу (тифопаратифозные и дизентерийные палочки), в синий цвет окрашивается

только столбик; скошенная поверхность не изменяется (т. е. остается розоватой).

Индикаторы. **Бромтимолблау для сред Гисса.** 0,4 *г* порошка бромтимолблау растворяют в 40 *мл* дистиллированной воды, нагревают до кипения и добавляют 6,4 *мл* 0,1 н. раствора едкого натра. Доводят до 100 *мл* дистиллированной водой. Готовый раствор индикатора добавляют к углеводным средам в количестве 1%. При нейтральной и слабощелочной реакции среда приобретает зеленоватый цвет. В щелочной среде — синий, в кислой — желтый.

Индикатор Андредэ. 0,5 *г* кислого фуксина растворяют в 100 *мл* дистиллированной воды, добавляют 16,4 *мл* н. раствора едкого натра. После прибавления щелочи фуксин обесцвечивается и приобретает слабо-розовую окраску. Стерилизуют 5 минут при температуре 110°С. К углеводным средам прибавляют 1% индикатора. В нейтральной и слабощелочной среде цвет слабо-розовый. При образовании кислоты фуксин восстанавливает свой цвет (красный).

Индикаторные бумажки на индол. Лист фильтровальной бумаги смачивают насыщенным раствором щавелевой кислоты. Бумагу высушивают, нарезают узкими полосками. После обработки бумага бесцветная. При наличии в культуре индола бумажка розовеет.

Проба на индол по Эрлиху. К 5 *мл* суточной бульонной культуры добавляют 2 *мл* эфира, встряхивают, добавляют по стенке 2 *мл* раствора парадиметиламидобензальдегида и 2 *мл* насыщенного при нагревании персульфата калия ($K_2S_2O_3$). В присутствие индола весь эфирный слой или нижняя его часть окрашивается в красный цвет.

Приготовление реактива:

парадиметиламидобензальдегид — 1,0 *г*,
спирт этиловый 96° — 95 *мл*,
соляная кислота концентрированная — 20 *мл*.

Индикаторные бумажки на сероводород. Лист фильтровальной бумаги смачивают в растворе следующего состава:

дистиллированной воды — 100 *мл*,
уксуснокислого свинца — 20 *г*,
двууглекислой соды — 1,0 *г*.

Бумагу высушивают, нарезают узкими полосками. После обработки бумага бесцветная. При наличии в культуре сероводорода — чернеет.

О повторном использовании мембранных фильтров, бывших в употреблении

Использованные при анализе воды мембранные фильтры частично сохраняют в качестве приложения в лабораторном журнале. Значительная же часть их при необходимости может быть использована для повторного употребления.

В первом случае фильтры после обеззараживания (см. выше)

вклеиваются в графе «примечание» журнала анализов или в отдельной тетради.

Мембранные фильтры, предназначенные для повторного использования, снятые со среды Эндо пинцетом, переносят в небольшую выпаривательную чашку, содержащую небольшое количество водопроводной воды, раскладывая их по одному, и осторожно смывают с фильтров выросшие на них колонии влажной мягкой кисточкой. После этого загрязненную воду через носик чашки сливают в другую посуду большей емкости. Освобожденные от колоний фильтры вторично промывают в той же чашке небольшим количеством воды из промывалки, воду снова сливают в тот же сосуд большой емкости, а фильтры сбрасывают кисточкой в высокую банку (трехлитровую) с водопроводной водой. Загрязненную воду подвергают обезвреживанию. Закончив первичную обработку партии фильтров, собирают их в высокой банке с водопроводной водой; банку обвязывают марлей, после чего фильтры промывают в течение суток проточной водой. Промытые фильтры раскладывают по одному на белой бумаге и оставляют на воздухе до полного высыхания, после чего их складывают в пачки и хранят в сухом виде.

При необходимости повторного использования фильтры обесцвечивают в течение 8—10 минут крепкой химически чистой азотной кислотой, налитой в сосуд небольшой емкости. Фильтры погружают в кислоту партиями по 10—15 штук. Через 8—10 минут кислоту переливают во второй такой же сосуд, а обесцвеченные (пожелтевшие) фильтры смывают в большой сосуд с водопроводной водой, подвергая их промыванию до тех пор, пока проточная вода не будет вполне нейтральной. Промытые фильтры высушивают на воздухе, как описано выше, складывают пачками, завертывают в стерильную марлю и сохраняют в 30% спирте.

Перед употреблением их кипятят 3 раза по 20 минут в дистиллированной воде, каждый раз сменяя воду. После последнего кипячения их используют повторно для анализа воды.

ЛИТЕРАТУРА

Абрамович Г. А., Россолова В. П. и Косураева Н. М. Возбудители кишечных инфекций в сточных водах больниц, Гигиена и санитария, 1954, № 2, стр. 15.

Андреева Г. В. и Никифорова Л. Л. К методике санитарно-бактериологического исследования воды по ГОСТ 5216-50 — 1955, Гигиена и санитария, 1959, № 5, стр. 61.

Арбатская Е. С. Сравнительная оценка существующих методик выделения из воды брюшнотифозной палочки, ЖМЭИ, 1941, № 5—6, стр. 204.

Барсов К. К. К методике учёта кишечной палочки на мембранных фильтрах, Микробиология, 1932, № 4, стр. 42.

Блохов В. П., Маркелов И. М. и Мухин В. Ф. Ускоренное обнаружение возбудителей некоторых заболеваний методом флуоресцирующих антител, Воен.-мед. журнал, 1959, № 6, стр. 71.

Гольдфарб Д. М. Обнаружение в искусственно загрязненной воде дизентерийных бактерий с помощью реакции нарастания титра фага. ЖМЭИ, 1957, № 1, стр. 26.

Гольдфарб Д. М. и Островская З. С. Индикация брюшнотифозной палочки в воде с помощью реакции нарастания титра фага, ЖМЭИ, 1957, № 5, стр. 17.

Гольдфарб Д. М. и Ершов Ф. И. Модификация реакции нарастания титра фага для исследования объектов, содержащих свободный фаг, ЖМЭИ, 1958, № 12, стр. 30.

ГОСТ 5215-50. Вода хозяйственно-питьевого и промышленного водоснабжения. Отбор, хранение и транспортирование проб, М., 1950.

ГОСТ 5216-50. Вода хозяйственно-питьевого и промышленного водоснабжения. Методы санитарно-бактериологического анализа, М., 1950, переиздание, 1956 и 1959.

ГОСТ 2874-54. Вода питьевая (качество воды), М., 1954.

ГОСТ 2761-57. Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Правила выбора и оценки качества, М., 1957.

Драчев С. М., Мац Л. И. Упрощенные и ускоренные методы санитарно-лабораторного исследования воды (химические и бактериологические), Медгиз, М., 1944.

Драчев С. М., Разумов А. С., Бруевич С. В., Скопцева В. А. и Голубева М. Т. Методы химического и бактериологического анализа воды, Медгиз, М., 1953, стр. 226—271.

Киченко М. Г. Применение среды с розоловой кислотой для выделения и идентификации микробов кишечно-тифозной группы, Гигиена и санитария, 1946, № 1—2, стр. 45.

Киченко М. Г. Ускоренное определение кишечной палочки в воде. Вопросы санитарной бактериологии, изд. АМН СССР, 1948, стр. 117.

Киченко М. Г. К вопросу об исследовании воды на микробы кишечной группы, Лабораторное дело, 1955, № 6., стр. 14.

Козлов Ю. А. Питательные среды в медицинской микробиологии, Медгиз, 1950.

Козлов Ю. А. Применение реакций с гаптеном как один из путей решения проблемы обнаружения патогенных бактерий в воде. Труды военно-медицинского факультета при Харьковском мед. институте, вып. 9, Харьков, 1957, стр. 37.

Колесинская Л. А. и Вольфсон Б. З. Исследование воды на наличие патогенных микробов семейства кишечных, Лабораторное дело, 1959, № 6, стр. 36.

Корш Л. Е. Прямой метод определения бактерий при санитарном изучении водоемов, Гигиена и санитария, 1959, № 9, стр. 85.

Крисс А. Е. Морская микробиология, изд. АН СССР, 1959.

Курочкин И. Д. Сравнительная оценка стандартного метода накопления и метода Киченко по выделению кишечной палочки из воды, Лабораторное дело, 1955, № 6, стр. 19.

Лабинская А. С. Вода. Сб. Методические указания по санитарно-бактериологическим исследованиям объектов внешней среды. Московский н.-и. институт гигиены и санитарии, М. 1959, стр. 30—39.

Лазарева М. Ф. Прямой счет бактерий при решении задач технической микробиологии воды, М., 1953.

Мардер Б. Б., Ленцнер А. А. и Титова-Мардер В. Л. Бактериоскопия как метод индикации бактерий в воде и воздухе. Военно-медицинский журнал, 1957, № 9, стр. 51.

Мац Л. И. Методика обнаружения тифозных и паратифозных бактерий в воде. Сб. Вопросы санитарной бактериологии, изд. АМН СССР, 1948, стр. 7.

Мейсель М. Н., Кабанова Е. А., Левина Е. Н. и Страхова В. А. Ускоренный люминесцентный метод индикации патогенных бактерий кишечной группы, ЖМЭИ, 1959, № 12, стр. 3.

Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях. Под ред. Г. Я. Синая и О. Г. Биргера, Медгиз, 1949, стр. 64—120 и 328—342.

Миляева Е. Н. Применение реакции нарастания титра бактериофага для обнаружения микробов дизентерии в искусственно зараженной воде. Гигиена и санитария, 1959, № 12, стр. 69.

Минкевич И. Е. Бактерии группы кишечной палочки как санитарно-показательные микроорганизмы, Медгиз, 1949.

Могилевский Я. А. и Казачина К. Н. Значение реакции с гаптеном при санитарной оценке качества воды, Гигиена и санитария, 1953, № 7, стр. 51.

Об определении титра кишечной палочки по методу М. Г. Киченко (к итогам дискуссии в журн. «Лабораторное дело», ред. статья), Лабораторное дело, 1956, № 1, стр. 28.

Олькеницкий И. С. Методические вопросы санитарно-бактериологического анализа воды (ГОСТ 5216—50). Гигиена и санитария, 1958, № 5, стр. 62.

Разумов А. С. Методы микробиологических исследований воды, М., 1947.

Разумов А. С. Мембранные фильтры и их применение при микробиологических исследованиях воды. Микробиология, 1955, том 24, вып. 2, стр. 234.

Разумов А. С., Корш Л. Е. Методы санитарно-микробиологических исследований. В кн. Приемы санитарного изучения водоемов, М., 1960, стр. 241—312.

Рахлина Л. Е. К вопросу об обнаружении брюшнотифозной и паратифозной палочки в питьевой и сточной воде, ЖМЭИ, 1942, № 8—9, стр. 54.

Родина А. Г. Микробиологическое исследование водоемов, М.-Л., 1950.

Россовская В. С. Определение в питьевой воде патогенной микрофлоры при помощи ультрафильтров, ЖМЭИ, 1940, № 5, стр. 121.

Руденко В. А. Сравнительные данные бактериологического посева воды в лаборатории и непосредственно у водоисточника, Гигиена и санитария, 1955, № 10, стр. 44.

Рубашкина Б. К. и Казакова С. Ф. Применение метода нарастания титра фага для исследования объектов внешней среды, ЖМЭИ, 1958, № 11, стр. 104.

Рутштейн Н. Д. Индикация тифозных и паратифозных микробов в питьевой воде при помощи реакции с гаптеном. Сб. Вопросы санитарной бактериологии, изд. АМН СССР, М., 1948, стр. 129.

Санитарные правила устройства и эксплуатации сооружений по очистке городских сточных вод. Государственная санитарная инспекция СССР, М., 1959.

Сироко А. Л. и Смирнова Г. А. Ускоренные методы диагностики бактериального заражения воды. В кн. Труды Московского обл. ин-та эпид. микроб. и инфекц. болезней, том 3, Свердловск, 1947, стр. 69.

Стояновский А. Ф. Новый метод гигиенической оценки бактериального загрязнения воды, Врачебное дело, 1957, № 12, стр. 1351.

Талаева Ю. Г. Значение реакции преципитации с гаптеном при решении вопроса о выживаемости дизентерийных микробов в воде, Гигиена и санитария, 1957, № 2, стр. 42.

Тец В. И., Санитарная микробиология, Медгиз, 1958.

Тимаков В. Д. и Гольдфарб Д. М. Экспериментальное обоснование нового метода обнаружения дизентерийных и брюшнотифозных бактерий с помощью фага, ЖМЭИ, 1956, № 10, стр. 3.

Тимаков В. Д. и Гольдфарб Д. М. Реакция нарастания титра фага как метод диагностики инфекционных заболеваний и индикации патогенных бактерий, ЖМЭИ, 1960, № 1, стр. 5.

Шкляр Н. М. Метод ускоренной индикации бактериальной зараженности, Воен.-мед. журнал, 1959, № 2, стр. 47.

Яковенко В. А. Методы санитарной оценки морских вод, Медгиз, 1959.

Prescott S. C., Winslow C. A., Mc. Crady M. H. Water bacteriology. Wiley, 1947.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ 3

Часть первая

Методы химического анализа питьевых вод (П. С. Савченко)

I. Общие указания к взятию проб воды и подготовке их для анализа 5
Отбор проб воды 5
Порядок проведения анализа и предварительная обработка проб . 7
Ведение рабочей тетради 8
Схема химического анализа воды 8
Методы химического анализа воды, принцип фотоколориметрии . 9
Вычисление результатов анализа 11

II. Определение физических и органолептических свойств воды 11
Температура 11
Запах 11
Вкус 12
Прозрачность и мутность 13
Осадок 13
Взвешенные вещества 13
Цветность 14

III. Определение химического состава воды 15
Растворенный кислород 15
Свободная углекислота 17
Агрессивная углекислота 18
Биохимическое потребление кислорода 19
Окисляемость воды 19
а) определение окисляемости перманганатным методом . . . 19
б) определение окисляемости в щелочной среде 20
Азот аммиачный 21
Азот нитритный 23
Азот нитратный 23
Определение pH 24
а) определение pH по Серенсену 24
б) определение pH по Джиллеспи 27
в) потенциометрическое определение pH 29
Щелочность 37

Карбонатная жесткость 37
Хлориды 37
а) определение по Мору 37
б) определение хлоридов меркурометрическим методом 38
Сульфаты 39
а) весовой метод 39
б) объемный метод 40
Железо 41
а) общее содержание железа 41
б) закисное железо 42
Сероводород 42
Фосфаты 42
Кремнекислота 43
Общая жесткость 44
Постоянная и временная жесткость 46
Кальций 47
Магний 49
Калий 49
Марганец 51
Сухой остаток 52
Проверка результатов анализа солевого состава воды 53
IV. Определение микроэлементов 54
Йод 54
Фтор 57
Медь 58
Цинк 59
Кобальт 61
Молибден 63
V. Контроль за качеством хлорирования воды 64
Определение активного хлора в хлорной извести 64
Определение остаточного хлора в воде 65
Литература 65

Часть вторая

Методы химического анализа производственных сточных вод
(Ф. Г. Дятловицкая)

I. Общие указания к взятию проб сточной воды и подготовке их для анализа 67
II. Схема анализа производственных сточных вод 68
III. Методы исследования 69
Температура 69
Цвет 70
Запах 70
Прозрачность 70
Взвешенные вещества 70
Определение концентрации ионов водорода 71
Щелочность 72
Кислотность 72
Биохимическое потребление кислорода 73
а) определение БПК методом разбавления 73
б) определение кислорода в модификации Ридель-Стюарта . 75
в) определение в щелочно-гипохлоритной модификации . . . 75
г) определение БПК нитратным методом 76
Окисляемость 77
а) определение окисляемости бихроматным методом 77
б) определение окисляемости перманганатным методом . . . 78

Азот аммиачный 79
а) объемный метод 79
б) колориметрическое определение 80
Азот нитритный 83
Азот нитратный 83
Сероводород 83
Хлориды 84
Роданиды 85
Цианиды 87
а) определение цианидов в виде роданидов 87
б) пикратный метод определения цианидов 88
в) определение цианидов с барбитуровой кислотой 89
Мышьяк 90
Фенолы 93
а) определение фенолов йодометрическим методом 94
б) колориметрическое определение с паранитроанилином . . . 94
в) колориметрическое определение с 4-аминоантипирином . . 95
г) колориметрическое определение с пирамидоном 96
Пиридиновые основания 98
Летучие жирные кислоты 99
Метиловый спирт 101
Формальдегид 103
а) объемный метод 103
б) колориметрический метод 104
Смолы, масла и нефтепродукты 105
Ароматические амины 106
а) определение хлораминовым методом 107
б) определение бромид-броматным методом 108
Нитробензол 109
Трихлорбензол 111
Эфирсульфонат 112
Литература 115

Часть третья

Методы санитарно-микробиологических исследований В. А. Ярошенко и Е. А. Альбова

Санитарно-бактериологическое исследование питьевой воды В. А. Ярошенко и Е. А. Альбова 116
Подготовка к санитарно-бактериологическому анализу воды 116
Отбор, хранение и транспортирование проб воды в лабораторию . . 117
Стандартные методы санитарно-бактериологического исследования воды 120
1. План санитарно-бактериологического анализа питьевой воды . . 121
2. Определение общего количества микробов 123
3. Исследование воды на наличие кишечной палочки 129
а) Метод мембранных фильтров 129
б) Двухфазный бродильный метод 135
Учет результатов анализа и их регистрация 139
Оценка качества воды по бактериальным показателям 146
Нестандартные методы определения коли-титра воды (В. А. Ярошенко) 147
Проведение анализа трехэтапным бродильным методом 147
Метод прямого посева воды на среду Эндо 149

Исследование питьевой воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы (В. А. Ярошенко) 149
1. Классический метод исследования воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий 150
2. Ускоренный метод исследования воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий 152
3. Исследование воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий методом ориентировочной бактериологической пробы 154
4. Исследование воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий методом агглютинации микробных ассоциаций 155
5. Исследование воды на присутствие тифозно-паратифозных и дизентерийных бактерий при помощи реакции с гаптеном . . . 158
6. Исследование воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы при помощи реакции нарастания титра фага 159
Применение РНФ для индикации брюшнотифозных бактерий 160
Применение РНФ для индикации дизентерийных бактерий . 162
7. Исследование воды на присутствие патогенных микробов кишечной группы методом люминесцентной микроскопии (В. А. Ярошенко) 163
8. Исследование воды на присутствие холерного вибриона . . . 166
Санитарно-бактериологическое исследование минеральных газированных вод естественного происхождения (В. А. Ярошенко) 168
Санитарно-бактериологическое исследование хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод (В. А. Ярошенко) 172
Определение количественного и качественного состава микрофлоры воды прямым микроскопическим методом (Е. А. Альбова) 176
Использование прямого счета бактерий при санитарной оценке воды . . 180
Необходимое оборудование лаборатории. Питательные среды и способы их изготовления (В. А. Ярошенко) 181
Приборы, аппараты и инструментарий 181
Бактериологическая посуда 182
Реактивы и материалы 183
Стерилизация посуды и питательных сред 183
Стандартные питательные среды и индикаторы для бактериологических исследований воды 184
О повторном использовании мембранных фильтров, бывших в употреблении (Е. А. Альбова) 190
Литература (В. А. Ярошенко) 192

149
150
152
154
155
158
159
160
162
163
166
168
172
176
180
181
181
182
183
183
184
190
192

Савченко Пантелеймон Спиридонович
Дятловицкая Фрида Григорьевна
Ярошенко Василий Андреевич
Альбова Евгения Алексеевна

Методы химического и микробиологического анализа воды

Редактор Р. Д. Габович
Техредактор А. О. Левчук
Художник А. Н. Гуленко
Корректор Л. К. Таланова

БФ33526. Заказ № 320. Тираж 8400. Подписано к печати 2/XII 1961 г. Учетно-издат. листов 12,83. Бумага 60×90¹/₁₆. бумажных 6,25. Физич. печатн. листов 12,5, (условн. печатн. лист. 12,5). Цена 74 коп.

Отпечатано с матриц Книжно-журнальной ф-ки, в 4-й военной типографии.

74 коп.